

Aus dem Institut für Tierärztliche Nahrungsmittelkunde
der Justus Liebig-Universität zu Gießen
Direktor: Professor Dr. H. Bartels

Untersuchungen zur Methodik der Keimzahlbestimmung bei pasteurisierter Trinkmilch

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
bei der Veterinär-Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität zu Gießen

Eingereicht von
Wolfgang/Schauer
Tierarzt aus Geyer/Erzgebirge

Gießen 1966



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153519_0010

Aus dem Institut für Tierärztliche Nahrungsmittelkunde
der Justus Liebig-Universität zu Gießen
Direktor: Professor Dr. H. Bartels

Untersuchungen zur Methodik
der Keimzahlbestimmung bei pasteurisierter Trinkmilch

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
bei der Veterinär-Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität zu Gießen

Eingereicht von
Wolfgang Schauer
Tierarzt aus Geyer/Erzgebirge

Gießen 1966

Mit Genehmigung der Veterinär-Medizinischen Fakultät
in Giessen

Dekan: Professor Dr. H. Bartels

Berichterstatter: Professor Dr. H. Bartels

Tag der mündlichen Prüfung: 10. Dezember 1966

D i s p o s i t i o n

	<u>Seite</u>
A. Einleitung	4
B. Schrifttum	6
I. Methoden zur kulturellen Keimzahlbestimmung bei Trinkmilch	6
II. Die Auswirkung der verschiedenen Nährbodenbestandteile insbesondere von Pepton und Zucker auf das Ergebnis der Keimzählung	15
III. Die Keime in der Trinkmilch	20
a) Die Schädigung der Keime durch die Pasteurisierung der Milch	20
b) Die Reinfektion	24
C. Eigene Untersuchungen	26
I. Material und Methodik	26
II. Vergleichende Keimzahlbestimmungen in der Trinkmilch mittels Bouillonagar, Chinablau-Laktose-Agar und des internationalen Standard-Vergleichsmediums bei 48- und 72stündiger Bebrütung der Nährböden	30
a) Untersuchungsergebnisse	30
b) Besprechung	35
III. Vergleichende Keimzahlbestimmungen in Trinkmilch mittels Bouillonagar, Chinablau-Laktose-Agar und des internationalen Standard-Vergleichsmediums mit und ohne Milchezusatz bei 72stündiger Bebrütung der Nährböden	38
a) Untersuchungsergebnisse	38
b) Besprechung	41
IV. Untersuchungen zur Bedeutung des Zuckerzusatzes bei den verwendeten Keimzählungsnährböden	43
a) Untersuchungsergebnisse	46
b) Besprechung	46
D. Diskussion der Ergebnisse und Schlußfolgerungen	49
E. Zusammenfassung	53
F. Literaturverzeichnis	55

A. Einleitung

Die Milch ist eines der wichtigsten Volksnahrungsmittel. Unter derzeitigen Verhältnissen stellt die "Trinkmilch", eine molkereimäßig bearbeitete Milch, die Grundlage für die Milchversorgung der Bevölkerung dar. Neben dieser für den allgemeinen Verbrauch vorgesehenen Milch wird die "Markenmilch" als gehobene molkereimäßig bearbeitete Milchsorte in den Verkehr gebracht. Weitere Handelsmilchsorten sind die zum Rohgenuß bestimmte Vorzugsmilch, und die im Rahmen des Selbstmarkens der Erzeuger abgegebene Milch, die jedoch für die Allgemeinversorgung nur beschränkte Bedeutung haben. In der Bundesrepublik Deutschland betrug die Jahresproduktion an Trinkmilch 1962 2.694.700 to und 1963 2.662.800 to. Dies entspricht einem jährlichen Durchschnittsverbrauch von 48,93 kg bzw. 47,82 kg Trinkmilch pro Kopf der Bevölkerung.

Soll die Trinkmilch den zu stellenden Qualitätsanforderungen entsprechen und ein biologisch vollwertiger Faktor der Ernährung sein, so bedarf sie einer einwandfreien hygienischen Beschaffenheit. Hygienische Mängel bei der Bearbeitung und weiteren Behandlung der Milch können nicht nur ihre Qualität herabsetzen, sondern durch Milchgenuß beim Menschen, besonders bei disponierten Personen, auch zu Gesundheitsschäden Anlaß geben.

Einer der wichtigsten Indikatoren der hygienischen Beschaffenheit der Milch und damit auch der Trinkmilch ist ihr Gesamtkeimgehalt, d. h., der Gehalt an lebens- und vermehrungsfähigen Keimen insgesamt. Es hat sich jedoch gezeigt, daß der Wert der Untersuchungsverfahren zur Ermittlung der Gesamtkeimzahl in Trinkmilch von verschiedenen Faktoren, insbesondere vom gebrauchten Nährmedium abhängig ist. Die mit den üblichen Verfahren erzielten Resultate lassen große Schwankungen erkennen und sind nur bedingt, unter Mitberücksichtigung des jeweils eingesetzten Kultursubstrates, brauchbar. Aus diesen Gründen besteht das dringende Bedürfnis nach einem Nährboden, der ein optimales

Wachstum für möglichst sämtliche in der Trinkmilch vorkommenden Keime gewährleistet. Nur durch Verwendung eines solchen Nährmediums bei der Keimzahlbestimmung wird die Ermittlung einer den tatsächlichen Keimstatus weitgehend entsprechenden Keimzahl sichergestellt. Die vorliegende Arbeit soll in diesem Sinne einen Beitrag zur Förderung der Hygienekontrolle der Milch darstellen.

B. Schrifttum

I. Methoden zur kulturellen Gesamtkeimzahlbestimmung

Die kulturelle Keimzahlbestimmung bei Milch und Milcherzeugnissen mittels des Plattenverfahrens nach KOCH hat sich als Standardmethode trotz des negativen Urteils von WILSON (51) über ihre Aussagekraft in den meisten europäischen Ländern und auch in Amerika durchgesetzt. In Verbindung mit einer zweckentsprechenden Kulturmethode (Nährboden, Bebrütungstemperatur und Bebrütungsdauer) ermöglicht es ein objektives Urteil über die hygienische Beschaffenheit der Milch.

Nach der "Deutschen Kommission zur Vereinheitlichung der Untersuchungsmethoden für Milch, Milchprodukte und Molkereihilfsstoffe (Methodenkommission)" (13) ist die Keimzahlbestimmung nach KOCH bei Milch folgendermaßen auszuführen:

Benötigte Gerätschaften: Petrischalen mit einem Durchmesser von 9 bis 10 cm, das Glas soll von möglichst blasen- und schlierenfreier Qualität sein; genormte Auslaufpipetten mit einem Volumen von 1,1 ml (1,0 + 0,1 ml, sog. DEMETER-Pipetten) als auch solche mit 1,2 ml Volumen (1,0 + 0,1 + 0,1 ml); Verdünnungsflaschen mit einem Mindestvolumen von etwa 150 - 200 ml, deren Glas praktisch farblos ist und die mit Gummistopfen, in denen ein Glasstab von etwa 5 - 7 cm Länge befestigt ist, verschlossen werden sollen. Die Petrischalen und die Verdünnungspipetten sind im Heißluftsterilisator keimfrei zu machen (mindestens 170°C, 60 Minuten).

Die Verdünnungsflaschen werden mit soviel Verdünnungsflüssigkeit beschickt, daß deren Menge nach dem Sterilisieren 99 ml beträgt. Als Verdünnungsflüssigkeit dient Leitungswasser oder physiologische Kochsalzlösung. Es wird im Autoklaven (1,0 atü, 30 Minuten) sterilisiert. Damit ein Druckausgleich erfolgen kann, sind die Stopfen der Flasche vor dem Sterilisieren lose auf den Hals der Verdünnungsflaschen aufzusetzen und nach beendetem Sterilisieren vorsichtig in den Flaschenhals hineinzudrücken.

Der Nährboden, Chinablau-Laktose-Fleischextrakt-Agar, hat folgende Zusammensetzung:

Liebigs Fleischextrakt	3,0 g
Kochsalz	5,0 g
Pepton	10,0 g
Laktose DAB VI	10,0 g
Agar - Agar	20,0 g
mit dest. Wasser auffüllen auf	1.000,0 ml
wäßrige Chinablaulösung 1 %ig	37,5 ml
Das pH soll $7,4 \pm 0,1$ betragen.	

Zur Nährbodenbereitung sollen nur Peptone verwendet werden, die nach papierchromatographischer Kontrolle als geeignet anerkannt worden sind. Der Agar muß von Kobe I. Qualität sein. Die Chinablaulösung ist aus Chinablau stand. Bayer herzustellen. Laut schriftlicher Mitteilung der Bayerwerke Leverkusen, erzeugen diese jedoch den Farbstoff nicht mehr. Sie verwiesen auf das von der Firma Merck hergestellte Chinablau.

Die zu untersuchenden Proben sollen bei der Untersuchung Zimmertemperatur haben, sie sind durch 3maliges Umkehren, gegebenenfalls Schütteln (bei einer festen Rahmschicht durch kurzes, ruckartiges Schütteln) vor der Untersuchung durchzumischen.

Beim Pipettieren sind die Pipetten zur Vermeidung von Fehlern nur mit der ausgezogenen Spitze etwa 0,5 cm in die Probe einzutauchen. Nachdem vom Untersuchungsmaterial 1 ml in die Verdünnungsflasche gebracht worden ist, ist dies 25 mal durch gleichmäßiges Auf- und Abwärtsbewegen zu schütteln. Von der auf diese Weise hergestellten Verdünnung werden unter Verwendung einer neuen Pipette 1,0 und 0,1 ml in die bereitgestellten Schalen übertragen. Von jeder Verdünnungsstufe sind grundsätzlich Parallelplatten anzulegen. Die gleiche Pipette wird auch für das Abmessen von 1,0 ml zur Herstellung der nächsten Verdünnung benutzt.

Der Nährboden soll beim Ausgießen eine Temperatur von 50°C nicht überschreiten. Jede Schale ist so mit Nährbodenmasse (etwa 10 ml) zu beschicken, daß durch vorsichtiges kreisförmiges Bewegen und schwaches Neigen eine gleichmäßige Durchmischung der Untersuchungsflüssigkeit mit dem Nährboden erzielt wird. Nach dem Erstarren des Agars in den Schalen sind diese umgekehrt (Nährboden nach oben) und höchstens 4 Platten übereinander geschichtet während 48 Stunden bei 30°C zu bebrüten und anschließend auszuzählen.

Die Auswertung erfolgt durch Zählen der Kolonien. Zunächst wird mit dem bloßen Auge gezählt und anschließend zur Erfassung sehr kleiner Kolonien unter Zuhilfenahme einer Lupe (4-6-fach) nachgezählt. Laufkolonien sind als eine Kolonie zu werten.

Zur Errechnung der Keimzahl ist der Mittelwert (arithmetisches Mittel) der Zählergebnisse auf den Parallelplatten mit dem dazugehörigen Verdünnungsfaktor zu multiplizieren. Platten mit weniger als 20 und mehr als 300 gewachsenen Kolonien bleiben bei der Auswertung unberücksichtigt. Bei Keimzahlangaben soll der Anteil der vorhandenen Säurebildner in den untersuchten Proben mit genannt werden. Die Höhe dieses Anteils ist durch Schätzung festzustellen.

Die Festlegung von Höchstkeimzahlen für Trinkmilch führte zur Verwendung des vom BOYSEN und GODBERSEN (5) vorgeschlagenen zuckerfreien Bouillonagar-Nährbodens, der auch von der in der Bundesrepublik Deutschland geltenden Markenmilchverordnung vom 31. Juli 1959 übernommen wurde. Durch ca. 10.000 Vergleichsuntersuchungen zwischen den bisher üblichen Milchzucker-Chinablau-Agar und dem zuckerfreien Bouillonagar stellten BOYSEN und GODBERSEN fest, daß an Hand der mittels Bouillonagar erhaltenen Keimzahlen die Haltbarkeit der Milch besser beurteilt werden kann als auf Grund der Keimzahlen, die mit Chinablau-Milchzuckeragar erzielt werden. Auf Chinablau-Milchzucker-Agar wurde in Milch, die durch Kurzzeiterhitzung bzw.

Dauererhitzung pasteurisiert wurde, im allgemeinen ein höherer Keimgehalt festgestellt als bei hocherhitzter Milch, während die Haltbarkeit von kurzzeit- oder dauererhitzter Milch gleich oder sogar besser war als die von hocherhitzter Milch. Der auf dem bisher üblichen Milchzucker-Chinablau-Agar gefundene höhere Keimgehalt der schonend behandelten Milch deutet darauf hin, daß infolge der schonenden Erhitzung Keime überleben, welche die Haltbarkeit der Milch nicht oder nur geringfügig beeinträchtigen (14). Diese Bakterien wachsen auf einem milchzuckerfreien Nährboden nicht an, so daß man bei der Verwendung von Bouillonagar praktisch nur die Keime erfaßt, die für die Haltbarkeit der Milch tatsächlich von Bedeutung sind. Durch den Wechsel des Nährbodens wollte man erreichen, daß eine Benachteiligung der kurzzeiterhitzten Milch mit ihren zahlreichen überlebenden Keimen aus der Gruppe der hitze-resistenten Milchsäurestreptokokken gegenüber der hocherhitzten Milch verhindert wird. Die hygienisch bedenklichen Keimarten wie die Proteolyten oder Kaseolyten sollten dagegen bevorzugt ermittelt werden, da sie in der Trinkmilch als unerwünschte Keimarten angesehen werden müssen. Der Bouillonagar erfüllte jedoch nicht die diesbezüglichen Erwartungen. Er erwies sich nicht als Selektivnährboden für Proteolyten, sondern es gelangen auch andere Keimarten, insbesondere Milchsäurebakterien darauf zum Wachstum (KELLERMANN, 26, 28).

KLEESATH (30) fordert, die Keimzahlbestimmung in Trinkmilch allgemein auf milchzuckerfreiem Bouillonagar durchzuführen. Wie seine Versuche zeigen, liegen bei Benutzung von Bouillonagar die Gesamtkeimzahlen bei den 3 Erhitzungsverfahren etwa gleich, während bei Benutzung von Chinablau-Milchzucker-Agar die Gesamtkeimzahlen in der Reihenfolge Hocherhitzung, Kurzzeiterhitzung, Dauererhitzung, wesentlich ansteigen und damit auch beim Kurzzeiterhitzungsverfahren die Anwendung höherer Erhitzungstemperaturen herausfordern, um die zugelassenen Höchstkeimzahlgehalte nicht zu überschreiten.

OLDENBURG (35) tritt vom Standpunkt des Molkereileiters für die Verwendung des Bouillonagars ein. Nach ihm werden, wenn einer

schonenden Kurzzeiterhitzung das Wort geredet werden soll, überholte Anschauungen über Keimzahlhöhen, die im wesentlichen auf Milchsäurebakterien nach schonender Kurzzeiterhitzung basieren, einer Korrektur unterworfen werden müssen. Es sollte zudem die Auffassung vertreten werden, daß unter Berücksichtigung der bakteriologisch vorerst noch unzureichenden Beschaffenheit der im Bundesgebiet bei den Molkereien zur Anlieferung kommenden Milch die Keimzahlbestimmung in pasteurisierter Milch nur auf milchzuckerfreiem Bouillonagar vorgenommen werden sollte, weil andernfalls, ausschließlich aus unwesentlichen Keimzahlgründen, nur die Hoherhitzung oder die überhöhte Kurzzeiterhitzung Bestand behalten könnten. In diesem Zusammenhang bleibt schließlich zu überdenken, ob eine internationale Abstimmung und Vereinbarung über anzuwendende Keimzahlbestimmungsmethoden bzw. -nährböden z. Z. überhaupt im deutschen Interesse liegen kann.

Nach KANDLER (22) bringt der Ersatz der zuckerhaltigen Nährböden durch den zuckerfreien Nährboden lediglich den Vorteil, daß eine geringe Keimzahl gefunden wird. Er bedingt aber den Nachteil, daß wir die wirkliche Gesamtkeimzahl nicht kennen und beim Handel mit anderen Ländern Reklamationen befürchten müssen. Außerdem vergrößert das Weglassen des Zuckers die Fehlergrenze ganz erheblich, denn 1. entwickeln sich alle Kolonien langsamer und erreichen nach 48 Stunden gerade die Sichtgrenze, so daß der subjektive Zählfehler erheblich wird, 2. führt der etwaige Zuckergehalt des Peptons zu erheblich höheren Keimzahlen, und man muß die Zuckerfreiheit des Peptons prüfen.

Die vergleichenden Untersuchungen von SEELEMANH (44) über die Keimzählung bei Milch u. a. mit Chinablau-Laktose-Agar, Bouillonagar nach der Markenmilchverordnung und Plate count agar erbrachten folgendes Resultat:

Nährboden	Durchschnittskeimzahlen aus 10 Proben (in Tausend)	
	Rohmilch	pasteur. Milch
Chinablau-Laktose-Agar Merck 1621 (DLG)	1.526	256
Liebig Fleischextrakt Bouillonagar (Bund. MMVO. 1959)	486	5
USA - Difco Plate count agar	1.625	412

Vor allem bei der Untersuchung der pasteurisierten Milch ergaben sich sehr große Unterschiede für die einzelnen Nährmedien. Die höchsten Keimzahlen konnten mit dem Plate count agar erzielt werden, die niedrigsten mit dem Bouillonagar. Die Differenz der Mittelwerte beträgt 407×10^3 . Die Keimzahlen mit dem Chinablau-Laktose-Agar liegen dazwischen. In den USA ist für die Keimzahlbestimmung bei Grad A -Milch (und zwar sowohl für die Anlieferungsmilch wie auch für die pasteurisierte A -Milch) der Plate count agar vorgeschrieben, während in der Bundesrepublik die Markenmilchprüfung lediglich mit gewöhnlichem Bouillonagar zu erfolgen hat.

Der Keimzähl Nährboden der Niederlande entspricht in Anpassung an die amerikanischen Standard-Methoden den Plate count agar (42).

Nach JEPSEN (21) wird in Finnland und allen anderen skandinavischen Ländern einschließlich Island zur Bestimmung der Gesamtkeimzahl in roher und pasteurisierter Milch ein Milch-Peptonagar folgender Zusammensetzung verwendet: 15 g Pepton, 50 g frische Vollmilch, 2 g Dextrose, 2 g NaCl, 2 g K_2HPO_4 , 1 g $Mg \cdot SO_4$, 15 g Agar, 1.000 ml Aqua dest.

In Großbritannien verwendet man nach DAVIS (11) einen Milch-Peptonagar mit Hefezusatz zur Durchführung der amtlichen Plattenmethode.

In den Vereinigten Staaten von Amerika ist der Trypton-Glukose-Extrakt-Magermilch-Agar (TGEM-Agar) nach BOWERS und HUCKER (4) für die Plattenmethode seit 1939 amtlich vorgeschrieben. Dieser Nährboden setzt sich aus 5 g Trypton, 1 g Glukose, 3 g Fleischextrakt, 15 g Agar, 10 ml frischer Magermilch und 1.000,0 ml Aqua dest. zusammen. Das pH soll 6,6 - 7,0 betragen. Die mit diesem Medium erzielten Keimzahlen werden nach DEMETER und LÖWENECK (12) den bei Verwendung des deutschen Laktose-Agars festgestellten etwa gleichgesetzt. Der für die Grad A -Milch zu verwendende Plate count agar enthält im Gegensatz zum TGEM-Agar statt 3 g Fleischextrakt 2,5 g Hefeextrakt. Der Plate count agar entspricht damit in seiner Zusammensetzung dem Standard-Vergleichsmedium des Internationalen Milchwirtschaftsverbandes.

Die Bebrütungstemperatur liegt einheitlich beim Plattenverfahren bei 30°C, wie sie auch die Methodenkommission vorgeschlagen hat (13).

Die Bebrütungsdauer ist in der Bundesrepublik auf 48 Stunden festgesetzt. Demgegenüber wird vom Internationalen Milchwirtschaftsverband eine 72stündige Bebrütung empfohlen (19).

RODENKIRCHEN (36) hat schon 1940 darauf hingewiesen, daß eine Bebrütungsdauer von 48 Stunden, die nach den an roher und dauerpasteurisierter Milch vorliegenden Erfahrungen ausreichend erschien, nach Einführung des Hoherhitzungsverfahrens nicht kritiklos beibehalten werden kann. Er stellte fest, daß bei der Untersuchung von hoherhitzter Milch nach 2tägiger Bebrütung der Platten nur 12 - 98 %, im Durchschnitt etwas über 60 % der tatsächlichen Kolonien zu erkennen sind. Nach ihm nimmt der Prozentsatz langsam wachsender Keime mit steigendem Grad der Sauberkeit der Milch zu, d. h. ein um so größerer Prozentsatz der Keime zeigt verzögerte Kolonie-Entwicklung auf den Platten, je keimärmer die Milch ist. TEWES und v. GAVEL (48) haben diese Ergebnisse in eigenen Untersuchungen bestätigt. Bei hygienisch einwandfrei behandeltem Material ist der Anteil langsam wachsen-

der Keime erheblich. Auch die sog. thermoresistenten Keime lassen viel langsames Wachstum erkennen als die Mehrzahl der ursprünglich in der Rohmilch vorkommenden oder durch Reinfektion in die pasteurisierte Milch gelangenden Keime. Um die Gesamtkeimzahl ermitteln zu können, müßten also die Platten länger als 48 Stunden bebrütet werden (TEWES und v. GAVÈL (48), STOCKER (46)).

Wurden die Petrischalen über 48 Stunden noch einen weiteren Tag im Brutschrank bei 30°C belassen, so mußte nach STOCKER (46) eine z. T. recht beträchtliche Zunahme der Kleinkolonien festgestellt werden, die bis zu 400 % betragen konnte.

GROSSLEY (10) unterbreitete 1958 einen Standardisierungsvorschlag für die Keimzahlbestimmung nach der Plattenmethode. Die Milch sollte in Zehnerpotenzen verdünnt und in die Petrischalen jeweils 1,0 ml pipettiert werden. Als Nährmedium empfiehlt er einen Hefeextrakt-Traubenzucker-Magermilch-Agar. Die gegossenen Platten sollten 3 Tage lang bei 30°C $\pm$ 1°C bebrütet werden.

Zur Bestimmung des Keimgehaltes von flüssiger und getrockneter Milch erging vom Internationalen Milchwirtschaftsverband der Internationale Standard FIL / IDF / IMV3 - 1958, der 1961 in der "Milchwissenschaft" zur Veröffentlichung kam (19). Dieser Internationale Standard sieht für die Keimzahlbestimmungen nachstehende Arbeitsmethoden vor:

Alle Gerätschaften sind vor dem Gebrauch gründlich zu reinigen und zu sterilisieren (170°C, 120 Minuten). Bei allen Manipulationen sind aseptische Bedingungen einzuhalten. Die Verdünnung erfolgt mittels viertelstarker Ringerlösung. Die Ringerlösung hat folgende Zusammensetzung:

Natriumchlorid	9,00 g
Kaliumchlorid	0,42 g
Calciumchlorid	0,24 g
Natriumbikarbonat	0,20 g
glasdestilliertes Wasser	1.000 ml

Vor Gebrauch wird 1 Teil dieser Lösung durch Zugabe von 3 Teilen destilliertem Wasser verdünnt.

Die Verdünnungsflaschen werden mit soviel Verdünnungsflüssigkeit beschickt, daß deren Menge nach der Sterilisation 99 ml bzw. 90 ml beträgt; die Flaschen sollen 150 - 170 ml fassen und mit einem Gummistopfen oder einer flüssigkeitsdichten Schraubkappe verschlossen werden. Bei Verwendung von Reagenzgläsern oder kleineren Flaschen soll die Menge der Verdünnungsflüssigkeit nach dem Sterilisieren 9 ml betragen. Es soll im Autoklaven mindestens 15 Minuten bei 121°C sterilisiert werden.

Die zu untersuchenden Proben sind sorgfältig vor der Untersuchung durchzumischen. Der Internationale Milchwirtschaftsverband empfiehlt die Verdünnungen in Zehnerpotenzen herzustellen. Die Verdünnungen 1:10 können durch Zugabe von 11 ml der Probe zu 99 ml der Verdünnungsflüssigkeit oder durch Zugabe von 10 ml zu 90 ml oder von 1 ml zu 9 ml bereitete werden. Die Verdünnung 1:100 kann durch Zugabe von 1 ml zu 99 ml Verdünnungsflüssigkeit oder durch weitere zehnfache Verdünnung wie vorstehend beschrieben bereitete werden. Weitere zehnfache Verdünnungen können nach Bedarf hergestellt werden. Wenn Keimgehalte unter 10.000/ml erwartet werden, sind Platten von den Verdünnungen 1:10 und 1:100 anzusetzen. Liegt der erwartete Keimgehalt zwischen 10.000 und 300.000/ml, so werden Platten von den Verdünnungen 1:100 und 1:1.000 angesetzt. Wenn schließlich die Keimzahl 300.000/ml überschreitet, werden, soweit erforderlich, weitere Verdünnungen bereitete. Bei der Beimpfung wird mittels neuer Pipette für jede Verdünnungsstufe und mit der letzten Verdünnung beginnend je 1 ml in die bereitgestellten Schalen übertragen. Von jeder Verdünnungsstufe sind möglichst mindestens 2 Platten anzusetzen. Erfolgt die Verdünnung mittels 9 ml-Verdünnungsröhrchen, so kann die Beimpfung auf die Weise vorgenommen werden, daß dieselbe 1 ml-Pipette, die zur Bereitung der nächsten Verdünnung dienen soll, auch zur Beimpfung der vorgesehenen Petrischalen verwendet wird.

Der Nährboden soll beim Ausgießen eine Temperatur von 45°C haben. Jede Schale ist mit dem verflüssigten Medium (etwa 10 ml) so zu beschicken, daß durch vorsichtiges kreisförmiges Bewegen und schwaches Neigen eine gleichmäßige Durchmischung der Untersuchungsflüssigkeit mit der Nährbodenmasse erzielt wird. Die Platten sind, nicht mehr als 6 Schalen übereinander gestapelt, 72 Stunden lang bei 30°C zu bebrüten und anschließend auszuzählen.

Die Auswertung erfolgt durch Zählen der Kolonien mittels einer Lupe. Es sollen ausschließlich Platten mit Kolonienzahlen zwischen 30 und 500 für die Berechnung der Ergebnisse herangezogen werden.

Das zur Keimzählung empfohlene Standard-Vergleichsmedium hat folgende Zusammensetzung:

Hefeextrakt	2,5 g
Trypton	5,0 g
Dextrose	1,0 g
Agar - Agar	15,0 g
dest. Wasser	1.000 ml
entrahmte Milch	10 ml
pH 7,0	

II. Die Auswirkung der verschiedenen Nährbodenbestandteile insbesondere von Pepton und Zucker auf das Ergebnis der Keimzählung

Der Wert eines Nährmediums für die Keimzahlbestimmung ist von vielen Faktoren abhängig, insbesondere von der Art der Zusammensetzung. BUCHBINDER und Mitarbeiter (8) fanden, daß 3 verschiedene Bakteriennährstoffe in einem optimalen Nährboden anwesend sein müssen. Es sind dies

- 1.) ein Hefeextrakt oder ein pflanzliches Pepton,
- 2.) ein oder mehrere tierische Peptone und
- 3.) ein Kohlehydrat (Dextrose).

Zur Frage ob Hefeextrakt oder Fleischextrakt verwendet werden soll, nimmt KELLERMANN (29) dahingehend Stellung, daß Hefeextrakt gleichmäßiger herzustellen und leichter zu standardisieren ist und aus diesem Grunde die Verwendung von Hefeextrakt zu bejahen ist.

Nach KUNDRAT (33) haben die Peptone innerhalb der Nährmedien eine besondere Bedeutung. Peptone werden z. B. aus Fleisch oder Kasein mittels enzymatischem Abbau hergestellt. Wird die Proteolyse mit Pepsin durchgeführt, so endet der Eiweißabbau bereits bei den niederen Peptiden. So weist z. B. Pepton Witte (mit Pepsin abgebautes Fibrin) papierchromatographisch freie Aminosäuren höchstens in Spuren auf. Anders sieht es aus, wenn die Proteolyse mittels Trypsinverdauung durchgeführt wird. Hier bleibt der Abbau nicht bei den niederen Peptiden stehen, sondern diese Verdauung führt z. T. bis zu den freien Aminosäuren. Da wir gerade in der Milch Bakterien mit ganz unterschiedlicher Enzymausstattung haben, ist es erwünscht auch den Keimen, die auf essentielle Aminosäuren angewiesen sind, optimale Entwicklungsmöglichkeiten zu bieten (41). Aus diesem Grunde sind daher für die Keimzahlbestimmung in Milch und Milchprodukten die Verwendung tryptisch verdauter Peptone zu fordern.

Untersuchungen von KANDLER (22) weisen demgegenüber darauf hin, daß der entscheidende Faktor für das unterschiedliche Keimzahlergebnis nicht im Aminosäuregehalt, sondern im möglichen Zuckergehalt der Peptone gesucht werden muß. Orientierende Versuche mit zuckerfreiem Nährboden unter Verwendung von 4 verschiedenen Peptonen (Pepton tryptisch verdaut aus Fleisch, Bacto Trypton, Bacto Pepton, Pepton Witte) haben nämlich ergeben, daß das Trypton trotz ähnlichem Aminosäuregehalt nicht die Ergebnisse des aus Fleisch tryptisch hergestellten Peptons, sondern das des Peptons Witte liefert. Bei Verwendung des durch tryptische Verdauung gewonnenen Peptons aus Fleisch wurden um das 2-3fach höhere Keimzahlen erzielt als mit Pepton Witte. Andererseits zeigten die Untersuchungen, daß sich nur in dem

durch tryptische Verdauung aus Fleisch hergestellten Pepton eine nennenswerte Menge von Zucker - 0,5 % - nachweisen läßt. KANDLER nimmt an, daß der relativ hohe Zuckergehalt dieses Peptons die starken Unterschiede bei der Keimzählung auf "zuckerfreien" Nährböden verursacht. Bei Beibehaltung des zuckerfreien Nährbodens müßte auf jeden Fall eine Kontrolle auf Zuckerfreiheit des Peptons gefordert werden. Beim Übergang zum international anerkannten Nährboden war dies nicht notwendig, da dieser ohnehin Glucose enthält und die geringe Erhöhung der Zuckerkonzentration durch den Zuckergehalt des Peptons keine Rolle spielt.

KELLERMANN (28) berichtet zur Peptonfrage, daß das bis zum Ende des Krieges bindend vorgeschriebene Pepton auf Fibrinbasis bei den Versuchen weit niedrigere Keimzahlen - oft eine loer-Potenz und mehr - ergab als bei Verwendung des der Milch mehr angepaßten Peptons aus Kasein, tryptisch verdaut.

Ein wichtiger Grundbestandteil der Nährmedien stellt der Zucker (Glucose) dar. In bestimmter Konzentration übt er einen entscheidenden Einfluß auf das Keimwachstum aus. Mit dieser Frage hat sich besonders KANDLER (23) eingehend beschäftigt. Die Untersuchungen wurden unter Verwendung von Rohmilch, kurzzeiterhitzter Milch und hochehitzter Milch vorgenommen. Nach den erzielten Ergebnissen verursacht bei hochehitzter Milch steigender Glucosezusatz keinerlei Vermehrung der Keimzahl. Sie sinkt im Gegenteil bei Zuckerkonzentrationen über 0,5 % ab, wobei die Ursache dieses Phänomens noch festzustellen ist. Bei Rohmilch wird die Keimzahl durch Zuckerkonzentrationen von 0,05 % und höher um nur 50 % erhöht. Bei kurzzeiterhitzter Milch schließlich tritt in Verbindung mit der Zugabe von Glucose eine Vervielfachung (bis zu 15-fach) der Keimzahl ein. KANDLER begründet diese Vervielfachung der Keimzahlen bei der Untersuchung kurzzeiterhitzter Milch damit, daß in dieser der absolut zuckerbedürftige Streptococcus thermophilus bis über 90 % der Gesamtkeimzahl ausmacht. Im Gegensatz zu Streptococcus thermophilus ist der in der Rohmilch dominierende Strep-

tococcus lactis nicht so zuckerbedürftig und wächst auch auf zuckerfreien Nährböden zu sichtbaren Kolonien, die allerdings klein bleiben, heran.

Auf Grund seiner Erfahrungen bei der Keimzahlbestimmung in pasteurisierter, namentlich kurzzeiterhitzter Trinkmilch, stellt FEILS (15) fest, daß Bouillonagar für die Keimzahlbestimmung wegen der gegebenen ungünstigen Wachstumsverhältnisse unbrauchbar ist. Hierfür eignet sich nur ein zuckerhaltiger Nährboden. Ähnlich berichtet KELLERMANN (28), die milchwirtschaftlichen Untersuchungsanstalten hätten die Überzeugung gewonnen, daß der Bouillonagar sich für die Keimzahlbestimmung in Milch nicht eignet, da wegen des fehlenden Zuckers und wegen der wechselnden Ansprüche eines Teils der Milchsäurestreptokokken die Befunde zu großen Schwankungen unterworfen sind. Es wird deshalb die Auffassung vertreten, daß man auch bei pasteurisierter Milch auf jeden Fall wieder auf einen zuckerhaltigen Nährboden zurückkommen muß. Hierdurch würde außerdem eine Anpassung an die internationalen Gebräuche erreicht werden, was als unbedingt nötig und erstrebenswert angesehen wird. SEELEMANN (44) tritt auf Grund seiner langjährigen Erfahrungen bei der Keimzahlbestimmung in pasteurisierter Milch für die einheitliche Verwendung des Chinablau-Laktose-Agars ein; zumindest sollten alle Nährböden, die nur sog. Bouillonagar ohne Zuckerzusatz als Grundlage haben, für die Feststellung von Keimen nicht mehr verwendet werden.

Nach Untersuchungen von FRANK und BUCHMEYER (16) zur *Agar-frage* ist für die üblichen Routineuntersuchungen in der Milchwirtschaft vom bakteriologischen Gesichtspunkt aus die Wahl der verwendeten Agarsorte weitgehend belanglos. Außer den allgemein bekannten Forderungen des nicht zu hoch liegenden Erstarrungspunktes und der Klarheit in dünner Schicht sowie einer geringen Eigenfärbung ist nur die Festigkeit der Gallerte zu beachten.

ROEDER (37) weist auf die bedeutende Rolle der *Azidität* des Nährbodens hin, was auch von TEWES in einer persönlichen Mitteilung an ROEDER bestätigt wird.

KELLERMANN (28) betont die Schwierigkeiten, den vorgeschriebenen pH-Wert innerhalb der zugestandenen Fehlergrenze in dem Nährboden richtig einzustellen. Die pH-Werte der in den verschiedenen Laboratorien zur Keimzahlbestimmung benutzten Nährböden waren sehr unterschiedlich, was sich zwangsläufig auch auf die Höhe der ermittelten Keimzahlen auswirkte. Höhere pH-Werte lassen im allgemeinen mehr Keime bei 2-tägiger Bebrütung zur Koloniebildung gelangen als niedrigere pH-Werte. Ganz besonders ist dies bei hocherhitzter Milch der Fall, bei der Keimsteigerungen durch unterschiedliche pH-Werte um ein Mehrfaches möglich sind.

BRANDEL und SOBECK-SKAL (6, 7) prüften von Januar bis Dezember 1962 an je 40 Proben Rohmilch, kurzzeit- und hocherhitzter Milch, inwieweit unterschiedliche Wasserstoffionenkonzentrationen und verschiedene Farbstoffkonzentrationen von Chinablauf und Anilinblau im Laktoseagar die Keimzahlbestimmung mit Hilfe des Plattenverfahrens beeinflussen. Es wurde festgestellt, daß bei der Untersuchung der gleichen Milchprobe mit zwei Nährböden gleicher Zusammensetzung aber verschiedenem pH-Wert im Falle kurzzeiterhitzter Milch bei pH 7,4 im Nährboden eine um ein Drittel höhere Keimzahl auftreten kann als bei dessen Einstellung auf pH 6,6. Bei hocherhitzter Milch kann diese Erhöhung bis zum Vierfachen der auf dem Nährboden mit pH 6,6 festgestellten Keimzahl gehen. Es wird deshalb im Interesse der Standardisierung auf die Notwendigkeit einer genauen Einstellung des pH-Wertes auf pH 7,4 hingewiesen. Bei der pH-Einstellung des Nährbodens sind zwei Faktoren zu berücksichtigen:

- 1.) Die Beeinflussung des pH-Wertes durch Glasgeräte niedriger hydrolytischer Klasse während des Erhitzens; zur Nährbodenbereitung und -aufbewahrung sind nur Behältnisse aus Jenaer Glas zu verwenden.
- 2.) Die Beeinflussung der pH-Messung durch die Temperatur des Nährbodens. So stellten BRANDEL und SOBECK-SKAL fest, daß nach Abkühlung des Nährbodens von 50°C auf 30°C der pH-Wert um 0,3 - 0,4 ansteigt, was bei der Einstellung des End-pH-Wertes beachtet werden muß.

Der Einfluß des Farbstoffzusatzes von Chinablau bis 375 mg bzw. von Anilinblau bis 800 mg pro 1 Ltr. Nährboden auf die Erfassung der Gesamtkeimzahl war nicht signifikant.

III. Die Keime in der Trinkmilch

a) Die Schädigung der Keime durch die Pasteurisierung der Milch

Nach § 1 Abs. 3, Ziff. 2b, der Ersten Verordnung zur Ausführung des Milchgesetzes vom 15. Mai 1931 in der Fassung vom 19. 12. 1959 ist pasteurisierte Milch diejenige Milch, die spätestens innerhalb 22 Stunden nach dem Melken nach ausreichender Reinigung mittels eines anerkannten Pasteurisierungsverfahrens sachgemäß erhitzt und im unmittelbaren Anschluß daran tiefgeköhlt (§ 23, Abs. 3) worden ist; die obersten Landesbehörden können aus zwingenden wirtschaftlichen Gründen im Einzelfalle die Überschreitung der 22stündigen Frist bis zu 3 Stunden zulassen, sofern durch zweckmäßige Maßnahmen einer nachteiligen Veränderung der Milch vor dem Pasteurisieren entgegengewirkt wird. Als anerkannte Pasteurisierungsverfahren gelten:

- a) die Hoherhitzung auf mindestens 85°C,
- b) die Kurzzeiterhitzung auf 71 - 74°C unter Voraussetzungen, die von der Reichsregierung näher zu bestimmen sind,
- c) die Dauererhitzung auf 62 - 65°C mindestens eine halbe Stunde lang und
- d) die Hoherhitzung im Wasserbad auf mindestens 85°C für die Dauer von mindestens einer Minute, wenn sie in Ausnahmefällen vorübergehend von der Landesbehörde genehmigt ist.

Nach BARTELS (2) bezweckt die Erhitzung der Milch die Abtötung möglicherweise vorhandener Krankheitserreger und saprophytärer Keime, welche die Güte und Haltbarkeit der Milch beeinträchtigen. Während vor der Tilgung der Rindertuberkulose und der Rinderbrucellose die Abtötung der pathogenen Keime die Hauptaufgabe

der Milcherhitzung war, ist nach erfolgreicher Tilgung dieser Seuchen die Verlängerung der Haltbarkeit stärker in den Vordergrund getreten. Der zuverlässige Gesundheitsschutz des Konsumenten durch die Erhitzung der Milch ist jedoch nach wie vor unerlässlich.

Wenn im Absterbeverlauf bei steigenden Temperaturen die verschiedenen Bakterienarten einer Mikroflora zwar nicht alle im gleichen Maße aber doch alle gleichzeitig mehr oder weniger geschädigt würden, so müßte sich eine stetige Abnahme der Keimzahlen ergeben, wie dies JANOSCHEK (20) in seinen Abbildungen verdeutlicht. Nach v. GAVEL (17) zeigt aber das Material der Erhitzerprüfungen nur wenige Kurven, die eine gleichmäßig fortschreitende Keimverminderung darstellen. Ein sehr unsteter Verlauf ist viel häufiger zu beobachten. Vielfach nimmt über mehrere ansteigende Hitzegrade hin der Keimgehalt kaum ab, um dann zwischen zwei aufeinander folgenden Versuchstemperaturen stark zurückzugehen. Solch ein starker Keimrückgang setzt oft zwischen $72 + 74^{\circ}\text{C}$ ein, manchmal aber erst bei 75°C . TEWES und v. GAVEL (49) haben bereits auf solche "Stufen" im Absterbeverlauf hingewiesen und auch die von STOCKER (46) wiedergegebenen Kurven lassen sie erkennen.

v. GAVEL konnte in ihren Erhitzungsversuchen mit sterilisierter und einem Bakterienstamm bzw. einem Bakteriengemisch beimpfter Magermilch eine "kritische Temperatur" nachweisen, die einen Bereich ungeschädigt ertragener Hitze von einem schädigenden Bereich trennt (17). Bei einer bestimmten Heißhaltezeit ist bis zu einer bestimmten Temperatur kein Keimzahlrückgang zu beobachten. Die kritische Temperatur liegt für jede Bakterienart in einem bestimmten Temperaturbereich und ist bei ruhenden Zellen etwas höher als bei sich teilenden. Eine sehr niedrige kritische Temperatur haben *Streptococcus lactis* und die Bakterien der *Coliaerogenes* Gruppe. Bei jungen Kulturen des verwendeten *Streptococcus faecalis*-Stammes fällt die kritische Temperatur in den Bereich der Kurrzeiterhitzung, während alte Kulturen des gleichen Stammes $72 - 74^{\circ}\text{C}$ noch fast ungeschädigt ertragen. Die kritische Temperatur für

Mikrobakterien wird erst bei der Hoherhitzung erreicht. Bakterienarten, deren kritische Temperatur verhältnismäßig niedrig ist, werden unter den bei der Pasteurisation herrschenden Bedingungen vernichtet. Arten, deren kritische Temperatur sehr hoch liegt, überdauern die Pasteurisation ohne Verminderung ihrer Individuenzahl. Die Pasteurisation bewirkt somit in mikrobiologischer Hinsicht eine Selektion resistenter Keimarten. Andererseits bestimmt der Anteil hitzeresistenter Keime in der Rohmilch den Abtötungseffekt der Erhitzungsverfahren. Dieser Anteil ergibt den Keimgehalt der pasteurisierten Milch. Hitzeempfindliche Formen, wie die starken Säurebildner, werden von Temperaturen ausgeschaltet, die noch erheblich unter dem für Kurzzeiterhitzung vorgeschriebenen Bereich liegen. Langsam wachsende säuernde Streptokokken ertragen die Bedingungen der Kurzzeiterhitzung noch in großer Zahl, wenn auch nicht ganz ungeschädigt, und die extrem hitzeresistenten Mikrobakterien werden selbst bei einer Heißhaltezeit von 40 sec. von den für Hoherhitzung vorgeschriebenen Temperaturen kaum angegriffen.

Thermoresistente Keime sind nach TERROINE (47) diejenigen Keime, die nach Erhitzung der Milch auf $63,5 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ während 30 Minuten bei der Gesamtkeimzahlbestimmung mittels Kulturverfahren sichtbar gemacht werden. Als Infektionsquelle mit thermoresistenten Keimen sollen nach TEWES und v. GAVÈL (48) in Übereinstimmung mit amerikanischen Wissenschaftlern vorwiegend Melkmaschinen, Milchkannen und andere Geräte der Erzeugerbetriebe in Betracht kommen (3).

Zur Ermittlung des Einflusses des Erhitzungsverfahrens und der Lagerungstemperaturen auf die bakteriologische Beschaffenheit der Milch wurden von GIBLIS (9) im Laboratorium Pasteurierungsversuche mit dem Normalerhitzer vorgenommen. Es wurde Rohmilch von einem Gesamtkeimgehalt von etwa 800.000 Keimen/ml pasteurisiert. Der Abtötungseffekt betrug bei der Kurzzeiterhitzung 98,4 und bei der Hoherhitzung 99,6 %. In der hocherhitzten Milch wurden vor allem Säurebildner, indifferente Keime sowie Caseinzer-setzer in wesentlich stärkerem Umfange abgetötet

als in der kurzzeiterhitzten Milch (1, 3). Coliforme Keime konnten in den Proben der pasteurisierten Milch sofort nach der Erhitzung nicht nachgewiesen werden.

Sofort nach der Erhitzung wurden in der behandelten Milch in nachstehenden Keimgruppen folgende Keimformen gefunden:

Säurebildner:	kurzzeiterhitzte Milch	Streptokokken	(92 %)
		Langstäbchen	(8 %)
	hocherhitzte Milch	Langstäbchen	(22 %)
		Mikrokokken	(78 %)
Alkalibildner:	kurzzeiterhitzte Milch	Mikrokokken	(75 %)
		Langstäbchen	(25 %)
	hocherhitzte Milch	Mikrokokken	(20 %)
		Langstäbchen	(80 %)
Caseinsetzer:	kurzzeiterhitzte Milch	Langstäbchen	(40 %)
		Mikrokokken	(30 %)
		Mikrobakterien	(30 %)
	hocherhitzte Milch	Langstäbchen	(65 %)
		Mikrokokken	(26 %)
		Mikrobakterien	(9 %)
Psychrotolerante Mikroorganismen:	kurzzeiterhitzte Milch	Langstäbchen	(42 %)
Mikrokokken		(58 %)	
	hocherhitzte Milch	Langstäbchen	(40 %)
Mikrokokken		(60 %)	

Einige der am häufigsten vorkommenden hitzeresistenten Keime hat CIBLIS (9) aus der kurzzeit- bzw. hocherhitzten Milch isoliert und systematisiert. Es konnten nachstehend aufgeführte Keimarten festgestellt werden:

Mikrokokken:	Micrococcus luteus
	Micrococcus varians
Mikrobakterien:	Microbacterium lacticum
	Microbacterium flavum
Streptokokken:	Streptococcus thermophilus
	Streptococcus faecalis
	Streptococcus bovis
Aerobe Sporenbildner:	Bacillus cereus
	Bacillus laterosporus
	Bacillus cereus var. mycoides
	Bacillus subtilis

Die bei 5°C gelagerten Proben der pasteurisierten Milch wiesen sehr häufig Bacillus megaterium auf.

KRAUS (31) tritt für eine schonende Erhitzung bei höchstens 71,5°C und 40 sec. durchschnittlicher Heißhaltezeit zur Verbesserung von Qualität und Haltbarkeit der Trinkmilch ein. Der Keimgehalt liegt bei dieser Erhitzung höher und führt bei den üblichen Bewertungsschemen zu einer ungünstigen Beurteilung. Der Proteolytengehalt liegt aber nicht höher, nur der Anteil der physiologischen Milchsäurebakterienflora überlebt in größerer Zahl als bei der nicht schonenden Erhitzung. Schon nach 24 Stunden (20°C) ist die Auswirkung am Proteolytengehalt erkennbar. Der Proteolytengehalt wird durch die Einwirkung der Milchsäurebakterien niedriger gehalten als bei der nicht schonenden Erhitzung.

SCHÖNBERG (38, 39) stellt die Forderung nach einer Kurzzeiterhitzung bei 71°C. Es kommt bei der Milchpasteurisierung darauf an, die Hitzegrenze so zu wählen, daß "die milchgünstigen Säurebildner, also die Antagonisten der Kaseolyten" erhalten bleiben. Zwischen 71°C und 74°C liegt diesbezüglich eine wichtige Grenze (43).

KELLERMANN (25, 26, 27, 28) äußert Bedenken gegen die erörterte Temperatur von 71°C im Hinblick auf die Möglichkeit des Überlebens pathogener Bakterien und Viren sowie die Wirksamkeit hitzebeständiger Toxine. Er stellte die Frage, ob es nicht Hauptziel sein sollte, alle vegetativen Formen der Keime, insbesondere auch die hitzeresistenten Milchsäurebakterien, die bei einer Erhitzungstemperatur von 72°C nicht abgetötet werden, abzutöten, wie es schon HENNEBERG (18) vor 30 Jahren gefordert hat.

b) Die Reinfektion

Es besteht ein großer Unterschied nach KUNDRAT (32, 33), ob man die Keime ermitteln will, die die Pasteurisierung überstanden haben, oder aber jene Keime, die infolge Reinfektion in die pasteurisierte Milch gelangt sind. Als reinfiziert gilt solche Trinkmilch, die nach Verlassen des Erhitzers mit Keimen verunreinigt worden ist. Im Vergleich zu den langsam wachsenden thermoresistenten Keimen ist hier der schnellwachsende an der Reinfek-

tion beteiligte Keimanteil nach TEWES und v. GAVÈL (48, 49) außerordentlich hoch.

Die Reinfektion molkereimäßig bearbeiteter Milch ist sehr häufig. CIBLIS (9) berichtet, daß von 156 Proben, die in vier Jahren bei der bakteriologischen Kontrolle der kurzzeiterhitzten Trinkmilch eines Molkereibetriebes untersucht wurden, 60 Proben reinfiziert waren. Als reinfiziert wurden dabei die Proben angesehen, die nach 24stündiger Lagerung bei 15°C in mindestens 0,1 ml Milch positive Coli-Aerogenes-Befunde aufwiesen. Es zeigte sich, daß in dieser Milch das Keimwachstum stark beschleunigt war. Des weiteren war die Haltbarkeit der reinfizierten Milch herabgesetzt.

KANDLER (22, 24) weist darauf hin, wenn in Zukunft durch wesentliche Verbesserung der Kühleinrichtungen auf dem Hofe, bzw. bei den Sammelstellen, die Keimzahl der Rohmilch sehr stark sinkt, wird die Verwendung der Keimzahl als Kriterium für die Qualität immer mehr an Bedeutung verlieren. Der Ersatz der Keimzahl durch den Nachweis der ordnungsgemäßen Erhitzung und die Kontrolle der Reinfektion erscheint KANDLER daher für die Zukunft von größerer Bedeutung als die kostspielige Keimzählung.

C. Eigene Untersuchungen

Im Rahmen der Untersuchungen, über die hier berichtet wird, sollten die verschiedenen Nährböden zur Keimzahlbestimmung bei Milch vergleichend auf ihre Brauchbarkeit zur kulturellen Keimzählung bei pasteurisierter Trinkmilch überprüft werden. Gleichzeitig wurde geprüft, ob eine 48stündige Bebrütung zur Keimzahlbestimmung ausreicht bzw. ob bei Erhöhung der Bebrütungszeit auf 72 Stunden eine wesentliche Vermehrung des Wachstums eintritt. Die Untersuchungen wurden unter Verwendung des für die Keimzahlbestimmung in Markenmilch vorgeschriebenen Bouillonagars, des von der Methodenkommission angegebenen Chinablauf-Laktose-Agars und des im Internationalen Standard FIL / IDF / IMV3 - 1958 vom Internationalen Milchwirtschaftsverband empfohlenen Standard-Vergleichsmediums, ein Hefeextrakt-Dextrose-Agar, in drei Abschnitten vorgenommen. Sie wurden in der Zeit vom 24. 3. 1965 bis 12. 11. 1965 durchgeführt.

I. Material und Methodik

Es wurden jeweils 5 am gleichen Tage ausgegebene Einmalpackungen (Blockpak) abgefüllter Trinkmilch untersucht. Ihr Einkauf erfolgte in 5 verschiedenen Verkaufsstellen im Absatzgebiet einer bestimmten Molkerei. Die Verkaufsstellen wurden ständig gewechselt, so daß Milch aus zahlreichen Handelsbetrieben zur Untersuchung kam. Die Trinkmilchpackungen wurden jeweils am Dienstag und Mittwoch gekauft und die Versuche unmittelbar nach dem Einkauf angesetzt.

Die Molkerei, aus deren Absatzgebiet die Trinkmilch stammte, arbeitet mit einer Erhitzungstemperatur zwischen 75 - 76°C und einer Heißhaltezeit von 40 sec., d. h. mittels überhöhter Kurzzeiterhitzung. Die Erhitzung wird mittels Plattenerhitzer aus den Baujahren 1953, 1955 und 1958 vorgenommen. Die Kühlung der pasteurisierten Milch erfolgt in geschlossenen Tanks. Die Abfüllung in Einmalpackungen (Blockpak) geschieht vollautomatisch.

Zur Gesamtkeimzahlbestimmung wurde das Plattenverfahren in Anlehnung an die von der Methodenkommission und dem Internationalen Milchwirtschaftsverband angegebenen Methoden wie folgt vorgenommen:

In sterile Reagenzgläser wurden 9 ml einer sterilen physiologischen Kochsalzlösung als Verdünnungsflüssigkeit abpipettiert. Nach gründlicher Durchmischung der in der Einmalpackung befindlichen Milchprobe wurde die Packung unter aseptischen Kautelen geöffnet und mit einer sterilen 1 Milliliter-Pipette 1 ml Trinkmilch zur Bereitung der Verdünnungsreihe entnommen, in 9 ml-Verdünnungsflüssigkeit gebracht und gründlich vermischt. Aus der so erzielten Verdünnung 10^{-1} wurden mit einer neuen Pipette 1 ml in ein zweites Verdünnungsröhrchen überpipettiert und so die Verdünnung 10^{-2} erstellt. Mit der Verdünnung in Zehnerpotenzen wurde auf diese Weise bis zur Verdünnung 10^{-4} fortgefahren. Von der auf diese Weise hergestellten Verdünnungsreihe wurden von der Verdünnungsstufe 10^{-3} und 10^{-4} mittels neuer Pipette für jede Verdünnung je 1 ml in die bereitgestellten Schalen übertragen. Aus jeder Verdünnungsstufe sind für jeden Nährboden grundsätzlich Parallelplatten angelegt worden. Jede Schale wurde mit verflüssigter Nährbodenmasse (etwa 10 ml), welche in Reagenzgläsern in einem Wasserbad mit 50°C bereit stand, so beschickt, daß durch vorsichtiges kreisförmiges Bewegen und schwaches Neigen eine gleichmäßige Verteilung der Untersuchungsflüssigkeit im Kultursubstrat erzielt wurde. Nach dem Erstarren des Nährbodens wurden die Schalen umgekehrt (Nährboden nach oben) 4 Stück übereinander gestapelt in den Brutschrank getan und bei 30°C bebrütet. Die Ablesung wurde nach 48- und 72stündiger Bebrütung mittels Lupe vorgenommen.

Die verwendeten drei Nährböden haben folgende Zusammensetzung:

1. Bouillonagar laut Anlage zur Markenmilchverordnung vom 31. 7. 1959:

Liebigs Fleischextrakt	3,0 g
Pepton (nach papierchromatographischer Kontrolle geeignet)	5,0 g
Kochsalz	5,0 g
Agar - Agar (z. B. Kobe-Agar)	20,0 g
dest. Wasser	1.000 ml

2. Chinablau-Laktose-Fleischextrakt-Agar nach den Angaben der Methodenkommission im Jahre 1960:

Liebigs Fleischextrakt	3,0 g
Kochsalz	5,0 g
Pepton	10,0 g
Laktose DAB 6	10,0 g
Agar - Agar (Kobe I)	20,0 g
wässrige Chinablau-Lösung 1 %ig	37,5 ml
pH	7,4 ± 0,1

3. Standard-Vergleichsmedium, empfohlen vom Internationalen Milchwirtschaftsverband zur Bestimmung des Keimgehaltes in flüssiger und getrockneter Milch im Internationalen Standard FIL / IDF / IMV3 - 1958:

Hefeextrakt	2,5 g
Trypton	5,0 g
Dextrose	1,0 g
Agar - Agar	15,0 g
dest. Wasser	1.000 ml
entrahmte Milch	10 ml
pH	7,0

Bei der Auszählung wurden Platten mit weniger als 20 und mehr als 500 gewachsenen Kolonien nicht berücksichtigt. Von dem auswertbaren Plattenpaar wurde der arithmetische Mittelwert genommen. Der so erhaltene Wert ergibt mit dem Verdünnungsfaktor multipliziert die Keimzahl. Aus Vergleichsgründen wurde, soweit möglich, die Berechnung der Keimzahl der einzelnen Milchproben

bei den verschiedenen Versuchsnährböden innerhalb der gleichen Verdünnungsstufe vorgenommen. In diesem Sinne wurde die Keimzahl, falls die Verdünnungsstufe 10^{-3} bei den Platten alle Versuchsnährböden auswertbares Wachstum brachte, auch dann im Rahmen dieser Verdünnungsstufe errechnet, wenn bei einzelnen Versuchsnährböden auch noch bei der Verdünnungsstufe 10^{-4} auswertbare Koloniezahlen beobachtet werden konnten. Ergaben alle Versuchsnährböden im Bereiche beider Verdünnungsstufen auswertbare Koloniezahlen, so wurde zur Ermittlung der Keimzahl die höhere Verdünnung herangezogen.

Die statistische Auswertung der Nährbodenprüfung erfolgte durch einen paarweisen Vergleich. Hierzu waren die Voraussetzungen gegeben, denn aus dem gleichen Material wurden mit gleicher Pipettiermethodik jeweils zwei verschiedene Nährböden beimpft. Die Auswertung wurde innerhalb einer Verdünnungsstufe vorgenommen. Es war dies die Verdünnungsstufe 10^{-3} , da bei den meisten Proben mittels dieser Verdünnungsstufe auf sämtlichen Nährböden des jeweiligen Versuchsabschnittes die Keimzahl ermittelt werden konnte. Zwischen jeweils zwei korrelierenden Ergebnissen wurde die Differenz "dv" gebildet.

Die Prüfung auf Signifikanz wurde durch Berechnung der t-Werte (Signifikanzwerte) vorgenommen. Signifikanz ist gegeben, wenn

$$t > t_{\alpha f}$$

ist, wobei α einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % entsprechen soll, die für die Auswertungen von biologischem Material als Grenzwahrscheinlichkeit angenommen wird, und

$$f = n-1$$

Freiheitsgrade bedeutet. Die Werte für

$$t_{\alpha f}$$

sind aus einer Tabelle abzulesen. (Erna Weber: Grundriß der biologischen Statistik, 4. Auflage, 1961, S. 500).

Die Berechnung der t-Werte erfolgt nach der Formel:

$$(I) \quad t = \frac{\bar{d}}{s_d} \cdot \sqrt{n}; \text{ dabei ist:}$$

$$(II) \quad \bar{d} = \frac{\sum dv}{n}$$

$$(III) \quad sd = \sqrt{\frac{1}{n-1} \left(\sum dv^2 - \frac{(\sum dv)^2}{n} \right)}, \text{ wobei}$$

n = Anzahl der Proben

dv = Differenz eines paarweisen Vergleiches

bedeutet.

Neben der Prüfung der Signifikanz wurden außerdem die arithmetischen Mittel der Probenreihen und auch der Differenzwerte errechnet.

Das dargelegte Auswertungsverfahren wurde von verschiedenen Untersuchern bei vergleichenden Nährbodenprüfungen gebraucht (SINELL, REUTER, UNTERMANN u. a. (45)).

II. Vergleichende Keimzahlbestimmungen in der Trinkmilch mittels Bouillonagar, Chinablau-Laktose-Agar und des internationalen Standard-Vergleichsmediums bei 48- und 72stündiger Bebrütung der Nährböden

Im Rahmen dieses Untersuchungsabschnittes sollten der Bouillonagar, der Chinablau-Laktose-Agar und das Standard-Vergleichsmedium auf ihre Eignung zur Keimzahlbestimmung bei pasteurisierter Trinkmilch vergleichend überprüft werden. Die Auswirkung einer verlängerten Bebrütung sollten dabei mit berücksichtigt werden. In diesem Sinne wurden mittels der angeführten drei Nährböden bei 95 Milchproben die Keimzahlen bestimmt und das erzielte Kolonienwachstum nach 48- und 72stündiger Bebrütung ausgezählt. Die Versuche kamen in der Zeit vom 24. 3. 1965 bis 29. 6. 1965 zur Ausführung.

a) Untersuchungsergebnisse

Die Untersuchungsergebnisse sind in den Tabellen Ia, Ib und Ic niedergelegt.

Die Tabelle Ia umfaßt die Trinkmilchproben, deren Keimzahlen mit den eingesetzten drei Nährböden bei der Verdünnungsstufe 10^{-3} festgestellt werden konnten.

Die Tabelle Ib enthält die Milchproben, deren Keimzahl mit den fraglichen 3 Nährböden erst bei der Verdünnungsstufe 10^{-4} ermittelt wurde.

Tabelle Ia: Die mittels Bouillon-Agar, Chinablau-Laktose-Agar und des internationalen Vergleichsmediums bei Ablesung nach 48- und 72stündiger Bebrütung erzielten Keimzahlen.
Verdünnungsfaktor = 10^5

Nr.	Bebrütungszeit 48 Stunden						Bebrütungszeit 72 Stunden			
	B.A.		Ch.L.A.		I.St.V.M.		B.A.		Ch.L.A.	
	k	K	dv	K	dv	K	K	dv	K	dv
1	7,80	32,30	+24,50	32,80	+25,00	12,70	44,15	+31,45	39,70	+27,00
2	5,55	19,40	+13,85	26,10	+20,55	8,40	23,30	+14,90	34,20	+25,80
3	5,30	26,20	+20,90	47,30	+42,00	8,90	27,40	+18,50	48,35	+39,45
4	6,28	23,00	+16,80	36,20	+30,00	7,30	26,00	+18,70	37,85	+30,55
5	18,90	19,50	+ 0,60	44,10	+25,20	20,45	27,80	+ 7,35	41,85	+21,40
6	7,80	24,90	+17,10	19,80	+12,00	7,30	28,85	+21,55	17,50	+10,20
7	10,30	22,80	+12,50	25,70	+15,40	9,55	28,90	+19,35	29,65	+20,10
8	16,60	30,80	+14,20	35,70	+19,10	18,65	34,20	+15,55	35,40	+16,75
9	5,10	30,50	+25,40	28,30	+23,20	6,60	24,55	+17,95	30,90	+24,30
10	14,90	35,00	+20,10	40,50	+25,60	15,20	32,40	+17,20	37,20	+22,00
11	19,55	27,25	+ 7,70	34,90	+15,35	21,00	27,75	+ 6,75	34,50	+13,50
12	12,45	20,15	+ 7,70	36,15	+23,70	14,25	21,15	+ 6,90	36,00	+21,75
13	3,35	16,10	+12,75	24,35	+21,00	3,50	15,50	+12,00	23,10	+19,60
14	5,90	12,50	+ 6,60	21,50	+15,60	5,90	13,85	+ 7,95	21,80	+15,90
15	5,30	8,40	+ 3,10	28,85	+23,55	5,60	10,00	+ 4,40	23,45	+17,85
16	5,90	6,95	+ 1,05	20,40	+14,50	5,80	7,45	+ 1,65	21,80	+16,00
17	3,95	6,00	+ 2,05	26,15	+22,20	3,90	7,35	+ 3,45	27,15	+23,25
18	4,05	14,65	+10,60	23,35	+19,30	6,90	16,95	+10,05	24,35	+17,45
19	5,30	12,15	+ 6,85	21,95	+16,65	5,90	15,15	+ 9,25	21,10	+15,20
20	3,10	12,55	+ 9,45	20,15	+17,05	6,10	14,50	+ 8,40	21,90	+15,80
21	5,45	10,65	+ 5,20	20,65	+15,20	5,90	13,40	+ 7,50	22,50	+16,60
22	6,20	13,85	+ 7,65	22,15	+15,95	7,10	17,00	+ 9,90	21,40	+14,30
23	5,70	13,00	+ 7,30	22,00	+16,30	8,00	16,65	+ 8,65	24,75	+16,75
24	4,30	10,50	+ 6,20	19,70	+15,40	5,25	14,00	+ 8,75	21,35	+16,10
25	3,30	11,90	+ 8,60	16,70	+13,40	5,70	14,60	+ 8,90	18,65	+12,95
26	4,70	9,85	+ 5,15	27,05	+22,35	5,65	13,65	+ 8,00	19,90	+14,25
27	7,45	7,65	+ 0,20	17,45	+10,00	8,80	9,80	+ 1,00	20,55	+11,75
28	3,00	10,55	+ 7,55	15,00	+12,00	5,60	18,50	+12,90	15,35	+ 9,75
29	2,40	11,30	+ 8,90	16,80	+14,40	2,70	11,40	+ 8,70	19,10	+16,40
30	2,00	13,25	+11,25	15,70	+13,70	2,55	14,10	+11,55	18,75	+16,20

Nr.	Bebrütungszeit 48 Stunden						Bebrütungszeit 72 Stunden					
	B.A.		Ch.L.A.		I.St.V.M.		B.A.		Ch.L.A.		I.St.V.M.	
	K	K	dv	K	dv		K	K	dv	K	dv	
31	3,20	9,50	+ 6,30	17,80	+14,60		4,15	11,50	+ 7,35	18,60	+14,45	
32	6,90	12,75	+ 5,85	29,10	+22,20		13,20	8,05	- 5,15	30,60	+17,40	
33	10,50	18,00	+ 7,50	25,20	+14,70		12,40	19,60	+ 7,20	28,00	+15,60	
34	5,50	8,50	+ 3,00	18,90	+10,40		8,70	5,95	- 2,75	18,05	+ 9,35	
35	10,70	15,70	+ 5,00	13,50	+ 2,80		16,45	12,60	- 3,85	15,00	- 1,45	
36	11,90	8,65	- 3,25	14,75	+ 2,85		13,05	10,65	- 2,40	16,65	+ 3,60	
37	8,15	20,15	+12,00	27,70	+19,55		11,05	22,30	+11,25	29,15	+18,10	
38	12,10	22,90	+10,80	25,10	+13,00		15,15	26,70	+11,55	29,70	+14,55	
39	10,15	13,15	+ 3,00	20,70	+10,55		12,40	15,10	+ 2,70	25,90	+13,50	
40	11,35	12,00	+ 0,65	22,00	+10,65		15,00	13,70	- 1,30	25,45	+10,45	
41	16,10	17,10	+ 1,00	35,80	+19,70		20,95	12,25	- 8,70	40,65	+19,70	
42	7,20	10,30	+ 3,10	21,75	+14,55		7,50	11,75	+ 4,25	22,95	+15,45	
43	7,25	11,90	+ 4,65	21,85	+14,60		8,05	13,10	+ 5,05	22,90	+14,85	
44	9,85	15,65	+ 5,80	23,55	+13,65		10,85	16,45	+ 5,60	24,55	+13,70	
45	5,30	7,00	+ 1,70	19,00	+13,70		5,85	9,75	+ 3,90	19,85	+14,00	
46	7,95	9,85	+ 1,90	23,15	+15,20		8,95	11,15	+ 2,20	24,95	+16,00	
47	3,85	10,85	+ 7,00	34,40	+30,55		6,90	14,75	+ 7,85	36,00	+29,10	
48	7,50	12,15	+ 4,65	31,65	+24,15		8,90	14,35	+ 5,45	33,10	+24,20	
49	5,05	12,05	+ 7,00	28,90	+23,85		7,65	17,00	+ 9,35	31,75	+24,10	
50	6,70	12,70	+ 6,00	32,70	+26,00		9,00	18,45	+ 9,45	36,00	+27,00	
51	5,75	8,85	+ 3,10	34,50	+28,75		9,20	13,25	+ 4,05	38,95	+29,75	
52	5,90	11,75	+ 5,85	23,33	+17,43		7,40	13,90	+ 6,50	24,50	+17,10	
53	10,50	12,00	+ 1,50	26,70	+16,20		11,25	15,50	+ 4,25	28,50	+17,25	
54	5,45	12,15	+ 6,70	21,65	+16,20		6,10	13,45	+ 7,35	23,50	+17,40	
55	9,95	10,75	+ 0,80	21,95	+12,00		10,50	12,60	+ 2,10	22,15	+11,65	
56	7,45	10,05	+ 2,60	21,40	+13,95		8,80	11,75	+ 2,95	21,35	+12,55	
57	2,55	10,85	+ 8,30	37,55	+35,00		9,50	14,45	+ 4,95	39,25	+29,75	
58	6,55	10,55	+ 4,00	31,05	+24,50		8,70	14,00	+ 5,30	33,00	+24,30	
59	3,85	12,15	+ 8,30	30,85	+27,00		8,65	18,35	+ 9,70	34,25	+25,60	
60	4,05	12,75	+ 8,70	32,85	+28,80		8,90	15,20	+ 6,30	36,30	+27,40	
61	5,35	8,40	+ 3,05	37,85	+32,50		16,60	13,05	- 3,55	40,85	+24,25	
62	2,90	5,60	+ 2,70	32,95	+30,05		4,65	8,10	+ 3,45	34,75	+30,10	
63	3,35	9,40	+ 2,05	25,25	+21,90		4,80	9,30	+ 4,50	26,85	+22,05	

Nr.	Bebrütungszeit 72 Stunden									
	B.A.		Ch.L.A.			I.St.V.M.			B.A.	
			Ch.L.A.			I.St.V.M.				
	M	K	dv	K	dv	K	K	dv	K	dv
64	3,65	7,00	+ 3,35	27,05	+23,40	4,90	9,55	+ 4,65	28,90	+24,00
65	3,00	4,80	+ 1,80	30,25	+27,25	5,65	7,35	+ 1,70	32,45	+26,80
66	4,00	5,80	+ 1,80	35,25	+31,25	5,80	9,80	+ 4,00	36,45	+30,65
67	5,40	6,00	+ 0,60	22,10	+16,70	6,75	11,45	+ 4,70	24,30	+17,55
68	6,30	9,20	+ 2,90	22,10	+15,80	8,75	12,75	+ 4,00	24,10	+15,35
69	6,50	6,60	+ 0,10	33,20	+26,70	7,75	10,55	+ 2,80	35,10	+27,35
70	7,55	8,00	+ 0,45	29,80	+22,25	9,20	13,80	+ 4,60	32,45	+23,35
71	9,70	13,40	+ 3,70	22,95	+13,25	12,00	17,15	+ 5,15	25,30	+13,30
72	5,70	6,40	+ 0,70	20,55	+14,85	6,55	8,15	+ 1,60	22,25	+15,70
73	10,40	13,75	+ 3,35	38,90	+28,50	12,20	15,70	+ 3,50	42,40	+30,20
74	7,90	8,70	+ 0,80	32,75	+24,85	8,55	11,40	+ 2,85	35,40	+26,85
75	11,75	12,85	+ 1,10	32,95	+21,20	14,00	16,05	+ 2,05	33,65	+19,65
76	14,80	13,55	- 1,25	32,50	+17,70	15,35	14,90	- 0,45	34,55	+19,20
77	4,05	4,25	+ 0,20	18,40	+14,35	5,25	6,10	+ 0,85	19,15	+13,90
78	4,10	5,15	+ 1,05	18,00	+13,90	4,95	7,00	+ 2,05	19,55	+14,60
79	5,20	6,95	+ 1,75	12,60	+ 7,40	6,15	8,75	+ 2,60	13,85	+ 7,70
80	17,80	16,90	- 0,90	43,50	+25,70	18,85	18,50	- 0,35	45,40	+26,55
81	3,00	5,00	+ 2,00	14,85	+11,85	3,75	6,65	+ 2,90	18,10	+14,35
82	2,75	4,90	+ 2,15	17,15	+14,40	4,15	7,55	+ 3,40	18,25	+14,10
83	4,00	4,40	+ 0,40	14,40	+10,40	6,00	8,40	+ 2,40	15,55	+ 9,55
84	4,05	4,90	+ 0,85	14,75	+10,70	6,05	5,80	- 0,25	17,30	+11,25
85	7,30	11,10	+ 3,80	22,35	+15,05	8,90	16,55	+ 7,65	25,90	+17,00
86	6,85	8,60	+ 1,75	16,40	+ 9,55	9,40	12,15	+ 2,75	20,25	+10,85
Sa.	608,35	1.093,90	+485,55	2.222,55	+1.614,20	773,25	1.304,40	+531,15	2.364,65	+1.591,40
n = 86										
arithm.										
Mittel: 7,07	12,72	+ 5,65	25,84	+18,77	8,99	15,17	+ 6,18	27,50	+18,91	
	t = 9,28		t = 24,41		t = 9,07		t = 24,84			
	signifikant		signifikant		signifikant		signifikant			

Tabelle Ib: Erzielte Keimzahlen analog der Tabelle Ia.

Verdünnungsfaktor = 10^4

Nr.	<u>Bebrütungszeit 48 Stunden</u>						<u>Bebrütungszeit 72 Stunden</u>					
	B.A.		Ch.L.A.		I.St.V.M.		B.A.		Ch.L.A.		I.St.V.M.	
	K	K	dv	K	dv	K	K	dv	K	dv	K	dv
1	48,00	40,50	- 7,50	190,50	+142,50	52,50	75,00	+ 22,50	199,00	+146,50		
2	80,50	91,00	+10,50	364,50	+284,00	103,00	128,00	+ 25,00	377,50	+274,50		
3	99,50	138,00	+38,50	390,00	+290,50	110,00	160,00	+ 50,00	408,50	+298,50		
4	102,50	119,00	+16,50	312,50	+210,00	127,50	157,00	+ 29,50	352,00	+224,50		
5	128,00	172,50	+44,50	360,00	+232,00	157,00	267,00	+110,00	462,00	+305,00		
6	53,00	25,50	-27,50	144,50	+ 91,50	63,50	39,50	- 24,00	155,00	+ 91,50		
7	47,50	22,50	-25,00	119,00	+ 71,50	61,50	28,50	- 33,00	221,00	+159,50		
8	57,40	42,00	-15,40	199,00	+141,60	69,50	29,00	- 40,50	210,00	+140,50		
Sa.	616,40	651,00	+34,60	2.080,00	+1.463,60	744,50	884,00	+139,50	2.385,00	+1.640,50		
n = 8												
arithm.												
Mittel:	77,05	81,38	+ 4,33	260,00	+182,95	93,06	110,50	+ 17,44	298,13	+205,00		

Tabelle Ic: Restfälle

Verdünnungsfaktor = 10^3 für Bouillonagar und
Chinablau-Laktose-Agar

Verdünnungsfaktor = 10^4 für Internationales
Vergleichsmedium

-	<u>Bebrütungszeit 48 Stunden</u>											
	B.A.		Ch.L.A.		I.St.V.M.		B.A.		Ch.L.A.		I.St.V.M.	
	K	K	dv	K	dv	K	K	dv	K	dv	K	dv
1	20,00	15,40	- 4,60	77,00	+ 57,00	21,60	19,90	- 1,70	81,50	+ 59,90		

Die Tabelle Ic betrifft einen Restfall mit dem Verdünnungsfaktor 10^3 für Bouillonagar und Chinablau-Laktose-Agar und dem Verdünnungsfaktor 10^4 für das internationale Standard-Vergleichsmedium.

In den Tabellen sind die Keimzahlen (K) dividiert mit dem Faktor 10^4 angegeben. Aus den unter K angegebenen Zahlen können somit die tatsächlichen Keimzahlen durch Multiplikation mit 10^4 errechnet werden. Als Bezugsnährboden diente der Bouillonagar (B.A.). Die für den Chinablau-Laktose-Agar (Ch.L.A.) und das internationale Standard-Vergleichsmedium (I.St.V.) ermittelten Differenzwerte (dv) beziehen sich im Sinne des paarweisen Vergleichs jeweils auf die korrelierenden Ergebnisse mit dem Bouillonagar.

Die statistische Gesamtauswertung wurde nur bei der Tabelle Ia vorgenommen, da die Keimzahlen des überwiegenden Teiles der Milchproben in dieser zusammengefaßt sind.

b) Besprechung

Es sind enthalten

in der Tabelle Ia (Verdünnungsfaktor 10^3) die Keimzahlen von 86 Proben

in der Tabelle Ib (Verdünnungsfaktor 10^4) die Keimzahlen von 8 Proben

in der Tabelle Ic (Verdünnungsfaktor 10^3 bzw. 10^4) die Keimzahlen von einer Probe.

Die Verdünnung 1:1.000 reichte somit von insgesamt 95 Proben nur bei 9 nicht aus, um mit sämtlichen eingesetzten Nährmedien und auch bei 72stündiger Bebrütung die Keimzahl zu bestimmen. Andererseits lagen die mittels dieser Verdünnungsstufe auf den Keimzählplatten erzielten Koloniezahlen stets über der unteren Zählgrenze. Die Verdünnungsstufe 1:100 war bei vorliegenden Versuchen entbehrlich; im Falle ihrer Verwendung wäre zu meist nicht auszählbares Wachstum daraus hervorgegangen.

Der Vergleich der Keimzahlergebnisse nach 48- und 72stündiger Bebrütungsdauer beim Bouillonagar, Chinablau-Laktose-Agar und dem internationalen Standard-Vergleichsmedium ergibt folgendes Bild:

Die Keimzahlen von 86 Proben zeigen in der Tabelle Ia einen arithmetischen Mittelwert bei einer Bebrütungsdauer von

	48 Stunden	72 Stunden
beim		
Bouillonagar	$7,07 \times 10^4$	$8,99 \times 10^4$
Chinablau-Laktose-Agar	$12,72 \times 10^4$	$15,17 \times 10^4$
internationalen Standard-Vergleichsmedium	$25,84 \times 10^4$	$27,50 \times 10^4$

Alle drei Nährböden lassen somit bei 72stündiger Bebrütung gegenüber der 48stündigen Bebrütung eine wesentliche Erhöhung der Keimzahlen erkennen.

Beim Vergleich der Nährböden untereinander ist zu erkennen, daß bei 48stündiger Bebrütung der Chinablau-Laktose-Agar in 83 von 86 Proben gegenüber dem Bouillonagar ein erhöhtes Kolonienwachstum zeigte. Das internationale Standard-Vergleichsmedium wies gegenüber dem Bouillonagar bei allen 86 Proben einen enormen Keimzuwachs auf, während es gegenüber dem Chinablau-Laktose-Agar in 84 Proben erhöhtes Keimwachstum zeigte.

Nach 72stündiger Bebrütungsdauer zeigte der Chinablau-Laktose-Agar gegenüber dem Bouillonagar in 76 von 86 Proben ein erhöhtes Keimwachstum, während das internationale Standard-Vergleichsmedium verglichen mit dem Bouillonagar in allen 86 Proben, verglichen mit dem Chinablau-Laktose-Agar in 85 Proben ein besseres Keimwachstum aufwies.

Beim Vergleich der arithmetischen Mittelwerte der 86 Proben aus der Tabelle Ia ist zu ersehen, daß bei 48stündiger Bebrütung ein arithmetisches Mittel für Bouillonagar von 7,07, für Chinablau-Laktose-Agar von 12,72 mit einem dazugehörigen Differenzwert von +5,65 errechnet wurde. Der paarweise Vergleich ergab

einen t-Wert von 9,28. Für das internationale Standard-Vergleichsmedium lag das arithmetische Mittel bei 25,84 mit einem dazugehörigen Differenzwert von 18,77. Der paarweise Vergleich erbrachte einen t-Wert von 24,41. Bei 72stündiger Bebrütung lag das arithmetische Mittel für Bouillonagar bei 8,99, für Chinablau-Laktose-Agar bei 15,17. Der dazugehörige Differenzwert betrug +6,18. Der paarweise Vergleich ergab einen t-Wert von 9,07. Für das internationale Standard-Vergleichsmedium lag das arithmetische Mittel bei 27,50 und der dazugehörige Differenzwert bei 18,51. Der t-Wert betrug 24,84. Die erzielten Differenzen sind somit hoch signifikant.

Die Ergebnisse zeigen, daß zwischen den einzelnen Nährböden erhebliche Unterschiede in bezug auf ihre Brauchbarkeit zur Keimzahlbestimmung bestehen. Der Bouillonagar zeigte die geringsten Keimzahlen, nach ihm folgte der Chinablau-Laktose-Agar. Die höchsten Keimzahlen brachte das internationale Standard-Vergleichsmedium hervor.

Die in den Tabellen Ib und Ic enthaltenen im Rahmen der Signifikanzprüfung nicht berücksichtigten und hier weiter nicht besprochenen insgesamt 9 Milchproben ließen grundsätzlich gleichsinnige Ergebnisse erkennen.

Die hohen Keimzahlergebnisse beim Chinablau-Laktose-Agar und die noch weit höheren beim internationalen Standard-Vergleichsmedium gegenüber denen des Bouillonagars sprechen für einen bedeutenden Anteil absolut zuckerbedürftiger Keime in der geprüften Trinkmilch, trotz überhöhter Kurzzeiterhitzung. Des weiteren war mit allen drei Versuchsnährböden ein erheblicher Teil der Keime erst nach 72 Stunden langer Bebrütung festzustellen. Die Ablesung nach 48 Stunden gab lediglich orientierende Hinweise über den Keimgehalt der Milch und scheint nur zu Übersichtszwecken brauchbar. Bei den folgenden Versuchen wurde deshalb nur noch einmal nach 72stündiger Bebrütung abgelesen.

III. Vergleichende Keimzahlbestimmungen in Trinkmilch mittels Bouillonagar, Chinablau-Laktose-Agar und des internationalen Standard-Vergleichsmediums mit und ohne Milchezusatz bei 72stündiger Bebrütung der Nährböden

Im Rahmen dieses Untersuchungsabschnittes sollten die Vergleichsuntersuchungen im vorausgegangenen Abschnitt bei einmaliger Ablesung der Versuchsnährböden nach 72stündiger Bebrütung weitergeführt werden. Als 4. Versuchsnährboden wurde dabei das internationale Standard-Vergleichsmedium ohne Milchezusatz mit eingesetzt. Durch die Mitverwendung dieses Versuchsnährbodens sollte das Studium der Bedeutung des Magermilchezusatzes für das internationale Standard-Vergleichsmedium ermöglicht werden.

Mittels der aufgeführten 4 Nährböden wurden bei 45 Milchproben die Keimzahlen bestimmt. Die Versuche kamen in der Zeit vom 6. 7. bis 8. 9. 1965 zur Ausführung.

a) Untersuchungsergebnisse

Die Untersuchungsergebnisse sind in den Tabellen IIa und IIb niedergelegt.

Die Tabelle IIa umfaßt die Trinkmilchproben, deren Keimzahlen mit den eingesetzten vier Nährböden bei der Verdünnungsstufe 10^{-3} festgestellt werden konnten.

Die Tabelle IIb enthält die Milchproben, deren Keimzahlen mit den fraglichen 4 Nährböden bei der Verdünnungsstufe 10^{-4} ermittelt wurden.

In den Tabellen sind die Keimzahlen (K) wieder dividiert mit dem Faktor 10^4 angegeben. Als Bezugsnährböden dienten der Bouillonagar (B.A.) und das internationale Standard-Vergleichsmedium mit Milch (I.St.V.M.m.M.). Die für den Chinablau-Laktose-Agar (Ch.L.A.) und das internationale Standard-Vergleichsmedium mit Milch (I.St.V.M.m.M.) und ohne Milch (I.St.V.M.o.M.) ermittelten Differenzwerte (dv) beziehen sich im Sinne des paarweisen Vergleichs jeweils auf die korrelierenden Ergebnisse mit dem

Tabelle IIa: Die mittels Bouillon-Agar, Chinablau-Laktose-Agar und des internationalen Vergleichsmediums mit und ohne Milch bei Ablesung nach 72stündiger Bebrütung erzielten Keimzahlen.

Verdünnungsfaktor = 10^3

Nr.	B.A.			I.St.V.M. ohne Milch		I.St.V.M. mit Milch		dv_1
	K	K	dv	K	dv	K	dv	
1	8,00	8,95	+0,95	18,35	+10,35	20,90	+12,90	- 2,55
2	9,10	9,95	+0,85	23,00	+13,90	14,25	+ 5,15	+ 8,75
3	8,30	8,70	+0,40	18,35	+10,05	12,95	+ 4,65	+ 5,40
4	11,35	9,55	-1,80	19,20	+ 7,85	15,20	+ 3,85	+ 4,00
5	7,95	6,45	-1,50	16,85	+ 8,90	15,35	+ 7,40	+ 1,50
6	5,90	12,30	+6,40	21,90	+16,00	23,50	+17,60	+ 1,60
7	9,15	10,40	+1,25	20,70	+11,55	18,70	+ 9,55	+ 2,00
8	6,85	7,05	+0,20	15,55	+ 8,70	14,25	+ 7,40	+ 1,30
9	6,15	10,30	+4,15	27,30	+21,15	15,40	+ 9,25	+11,90
10	13,55	14,00	+0,45	20,05	+ 6,50	17,90	+ 4,35	+ 2,15
11	18,75	17,65	-1,10	27,30	+ 8,55	23,30	+ 4,55	+ 4,00
12	18,95	14,45	-4,50	23,50	+ 4,55	23,15	+ 4,20	+ 0,35
13	12,40	12,05	-0,35	25,95	+13,55	29,50	+17,10	- 3,55
14	4,90	6,00	+1,10	21,50	+16,60	24,80	+19,90	- 3,30
15	7,35	8,55	+1,20	20,30	+12,95	17,60	+10,25	+ 2,70
16	5,45	3,45	-2,00	15,25	+ 9,80	18,45	+13,00	- 3,20
17	4,45	2,65	-1,80	10,90	+ 6,45	15,35	+10,90	- 4,45
18	8,50	5,50	-3,00	14,10	+ 5,60	14,00	+ 5,50	+ 0,10
19	17,75	17,35	-0,40	27,20	+ 9,45	25,75	+ 8,00	+ 1,45
20	13,25	7,25	-6,00	17,10	+ 3,85	20,00	+ 6,75	- 2,90
21	8,30	12,15	+3,85	20,05	+11,75	22,60	+14,30	- 2,55
22	7,35	6,75	-0,60	15,30	+ 7,95	13,40	+ 6,05	+ 1,90
23	7,30	11,05	+3,75	14,10	+ 6,80	13,25	+ 5,95	+00,85
24	4,45	5,80	+1,35	11,60	+ 7,15	17,65	+13,20	- 6,05
25	6,50	6,90	+0,40	14,70	+ 8,20	19,20	+12,70	- 4,50
26	17,05	17,60	+0,55	19,40	+ 2,35	31,95	+14,90	-12,55
27	6,70	10,50	+3,80	16,55	+ 9,85	14,30	+ 7,60	+ 2,25
28	5,80	8,25	+2,45	14,95	+ 9,15	12,55	+ 6,75	+ 2,40
29	16,05	9,90	-6,15	24,45	+ 8,40	21,80	+ 5,75	+ 2,65
30	5,00	10,15	+5,15	12,15	+ 7,15	13,75	+ 8,75	- 1,60
Sa.	282,55	291,60	+9,05	567,60	+285,05	560,75	+278,20	+ 6,85

n = 30

arithm.

Mittel: 9,42 9,72 +0,30 18,92 + 9,50 18,69 + 9,27 + 0,23

t = 0,55

t = 13,19
signifikant

t = 11,48 t = 0,27
signifikant

Tabelle IIb: Erzielte Keimzahlen analog der Tabelle IIa.

Verdünnungsfaktor = 10^4

Nr.	B.A.			I.St.V.M. ohne Milch		I.St.V.M. mit Milch		dv ₁
	K	K	dv	K	dv	K	dv	
1	136,00	153,00	+17,00	284,00	+148,00	286,00	+150,00	- 2,00
2	28,00	36,00	+ 8,00	48,50	+ 20,50	48,50	+ 20,50	+ -
3	27,50	40,50	+13,00	84,00	+ 56,50	90,00	+ 62,50	- 6,00
4	32,00	32,50	+ 0,50	68,50	+ 36,50	90,50	+ 58,50	-22,00
5	20,50	26,50	+ 6,00	53,00	+ 32,50	68,00	+ 47,50	-15,00
6	152,00	60,50	-91,50	254,50	+102,50	196,50	+ 44,50	+58,00
7	108,00	93,50	-14,50	198,50	+ 90,50	185,50	+ 77,50	+13,00
8	50,00	58,50	+ 8,50	136,50	+ 86,50	186,50	+136,50	-50,00
9	87,50	79,00	- 8,50	141,10	+ 53,60	176,00	+ 88,50	-34,90
10	82,50	72,00	-10,50	115,50	+ 33,00	136,50	+ 54,00	-21,00
11	67,50	87,00	+19,50	149,50	+ 82,00	152,50	+ 85,00	- 3,00
12	63,00	85,00	+22,00	103,50	+ 40,00	123,00	+ 60,00	-20,00
13	22,00	59,50	+37,00	88,00	+ 66,00	95,00	+ 73,00	- 7,00
14	59,00	61,50	+ 2,50	112,50	+ 53,50	94,00	+ 35,00	+18,50
15	35,00	62,50	+27,50	70,50	+ 35,50	64,00	+ 29,00	+ 6,50
Sa.	970,50	1007,50	+37,00	1907,60	+937,10	1992,50	+1022,00	-84,90

n = 15

arithm.

Mittel: 64,70 67,17 + 2,47 127,17 + 62,47 132,83 + 68,13 - 5,66

Bouillonagar, die für das internationale Standard-Vergleichs-medium ohne Milch errechneten Differenzwerte dv_1 beziehen sich auf die korrelierenden Ergebnisse des internationalen Standard-Vergleichsmediums mit Milch.

Die statistische Auswertung wurde nur bei der Tabelle IIa vorgenommen, da die Keimzahlen des weitaus überwiegenden Teiles der Milchproben in dieser zusammengefaßt sind.

b) Besprechung

Es sind enthalten

in der Tabelle IIa (Verdünnungsfaktor 10^3) die Keimzahlen von 30 Proben und

in der Tabelle IIb (Verdünnungsfaktor 10^4) die Keimzahlen von 15 Proben.

Die mittels der Verdünnungsstufe 10^{-3} erzielten Koloniezahlen lagen stets über der unteren Zählgrenze. Die Verdünnung 1:100 war somit auch in diesem Versuchsabschnitt entbehrlich.

Die Keimzahlen der untersuchten 45 Proben ergaben nachstehende arithmetische Mittelwerte:

	Tabelle IIa, Verdünnungs- faktor 10^3 (30 Proben)	Tabelle IIb, Verdünnungs- faktor 10^4 (15 Proben)
Bouillonagar	$9,42 \times 10^4$	$64,70 \times 10^4$
Chinablau-Laktose-Agar	$9,72 \times 10^4$	$67,17 \times 10^4$
Internationales Standard- Vergleichsmedium ohne Milch	$18,92 \times 10^4$	$127,17 \times 10^4$
Internationales Standard- Vergleichsmedium mit Milch	$18,69 \times 10^4$	$132,83 \times 10^4$

Beim Vergleich der Nährböden untereinander ist aus den Tabellen IIa und IIb zu erkennen, daß der Chinablau-Laktose-Agar in 29 von insgesamt 45 Proben gegenüber dem Bouillonagar ein erhöhtes Kolonienwachstum zeigte. Das internationale Standard-Vergleichs-medium mit und ohne Milch wies in allen 45 Proben sowohl gegen-

über dem Bouillonagar als auch dem Chinablau-Laktose-Agar ein erheblich höheres Kolonienwachstum auf. Das internationale Standard-Vergleichsmedium ohne Milch zeigte gegenüber dem internationalen Standard-Vergleichsmedium mit Milch in 23 von 45 Proben ein erhöhtes Kolonienwachstum; in einem Fall war das Wachstum auf beiden Nährböden gleich.

Die Prüfung der Nährmedien in der Tabelle IIa auf Signifikanz im Vergleich zum Bouillonagar erbrachte für den Chinablau-Laktose-Agar einen mittleren Differenzwert von $+0,30$ und einen t -Wert von $0,55$. Die erzielte Differenz ist somit nicht signifikant. Für das internationale Standard-Vergleichsmedium ohne Milch lag die mittlere Differenz bei $+9,50$ und der t -Wert bei $13,19$. Für das internationale Standard-Vergleichsmedium mit Milch lag die mittlere Differenz bei $+9,27$ und der t -Wert bei $11,48$. Die erzielten Differenzen sind damit für beide Nährmedien hoch signifikant. Der paarweise Vergleich des internationalen Standard-Vergleichsmediums ohne Milch bezogen auf das korrelierende Ergebnis des internationalen Standard-Vergleichsmediums mit Milch erbrachte eine mittlere Differenz (dv_1) von $+0,23$ und einen dazugehörigen t -Wert von $0,27$. Die ermittelte Differenz ist somit nicht signifikant.

Auf dem Versuchsabschnitt ist der Rückgang der absolut zuckerbedürftigen Keime charakteristisch. Dieser Umstand tritt insbesondere beim Chinablau-Laktose-Agar hervor, der im Gegensatz zum 1. Versuchsabschnitt, im Vergleich mit dem Bouillonagar keine signifikante Erhöhung der Keimzahlen bringt. Aber auch die mit dem Standard-Vergleichsmedium erzielten Keimzahlen weisen darauf hin.

Der Magermilchzusatz im internationalen Standard-Vergleichsmedium ist auf Grund der Untersuchungsergebnisse ohne Bedeutung und hat keinen wesentlichen Einfluß auf das Keimwachstum bzw. die ermittelten Keimzahlen.

IV. Untersuchungen zur Bedeutung des Zuckerzusatzes bei den verwendeten Keimzählungsnährböden.

Im Rahmen des Versuchsabschnittes sollte vor allem die Bedeutung des Zuckerzusatzes im Chinablau-Laktose-Agar und im internationalen Standard-Vergleichsmedium studiert werden. Dabei wurde zur Wirkungsanalyse im Falle des internationalen Standard-Vergleichsmediums das Substrat ohne Magermilch eingesetzt, um eine Beeinflussung der Untersuchungsergebnisse durch die in der Magermilch enthaltene Laktose zu vermeiden; der vorausgegangene Untersuchungsabschnitt hat die Gleichwertigkeit der mit und ohne Magermilch bereiteten Nährböden ergeben. Außerdem wurde in Anbetracht der einschlägigen Untersuchungsergebnisse im vorstehenden Untersuchungsabschnitt die vergleichende Prüfung zwischen Bouillonagar und Chinablau-Laktose-Agar weitergeführt.

Im dargelegten Sinne wurden die Untersuchungen unter Verwendung von

Bouillonagars

Chinablau-Laktose-Agars

Chinablau-Agars ohne Zuckerzusatz

Internationalen Standard-Vergleichsmediums mit Dextrosezusatz und des

Internationalen Standard-Vergleichsmediums ohne Dextrosezusatz

durchgeführt.

Die bei der Keimzählung gebrauchte Arbeitsmethode wich von der bisher verwendeten Arbeitsweise insofern ab, als zu den Verdünnungen 10^{-3} und 10^{-4} Kölbchen mit 18 ml steriler Verdünnungsflüssigkeit verwendet wurden. In den Kölbchen wurden die genannten Verdünnungen durch Übertragung von jeweils 2 ml aus der Verdünnung 10^{-2} bzw. 10^{-3} bereitet. Diese Änderung der Methodik war erforderlich, um für die Beschickung der Platten ausreichend Material zur Verfügung zu haben.

Tabelle IIIa: Die mittels Bouillon-Agar, Chinablau-Laktose-Agar mit und ohne Laktose und des internationalen Vergleichsmediums mit und ohne Dextrose bei Ablesung nach 72stündiger Bebrütung erzielten Keimzahlen.

Verdünnungsfaktor = 10^3

Nr.	B.A.	Ch.L.A.		Ch.A.		I.St.V.M. m.Dextrose	I.St.V.M. ohne Dextrose	dv ₁
		K	dv	K	dv	K	dv	
1	6,35	4,25	-2,10	6,45	- 2,20	12,20	13,35	- 1,15
2	9,10	3,75	-5,35	5,00	- 1,25	14,40	13,20	+ 1,20
3	9,30	16,30	+7,00	9,40	+ 6,90	21,30	18,10	+ 3,20
4	7,75	9,55	+1,80	6,80	+ 2,75	15,20	12,60	+ 2,60
5	7,10	10,65	+3,55	9,45	+ 1,20	20,70	18,80	+ 1,90
6	4,50	4,75	+0,25	3,90	+ 0,85	9,30	6,45	+ 2,85
7	2,95	3,20	+0,25	4,70	- 1,50	9,05	7,35	+ 1,70
8	3,95	4,45	+0,50	5,50	- 1,05	11,95	10,70	+ 1,25
9	4,90	6,85	+1,90	5,40	+ 1,45	10,65	4,55	+ 6,10
10	2,15	4,05	+1,90	6,10	- 2,05	7,75	8,00	- 0,25
11	14,15	14,80	+0,65	10,05	+ 4,75	23,25	19,90	+ 3,35
12	10,60	18,00	+7,40	6,20	+11,80	27,05	12,15	+14,90
13	9,95	12,05	+2,10	6,95	+ 5,10	25,80	14,90	+10,90
14	15,30	17,95	+2,65	10,80	+ 7,15	23,85	16,50	+ 7,35
15	12,40	9,30	-3,10	8,80	+ 0,50	20,45	13,35	+ 7,10
16	9,05	8,60	-0,45	5,05	+ 3,55	10,00	13,15	- 3,15
17	8,90	11,50	+2,60	6,80	+ 4,70	20,80	11,95	+ 8,85
18	6,50	9,00	+2,50	5,65	+ 3,35	12,05	12,55	- 0,50
19	6,85	8,95	+2,10	5,65	+ 3,30	11,70	9,40	+ 2,30
20	7,10	13,30	+6,20	4,65	+ 8,65	15,25	11,45	+ 3,80
21	3,75	2,00	-1,75	2,40	- 0,40	6,75	6,35	+ 0,40
22	5,50	3,85	-1,65	2,30	+ 1,55	7,50	5,85	+ 1,65
23	5,35	4,85	-0,50	2,80	+ 2,05	8,75	7,55	+ 1,20
24	5,40	5,85	-0,45	2,90	+ 2,95	8,90	6,95	+ 1,95
25	5,00	2,50	-2,50	2,85	- 0,35	8,85	6,40	+ 2,45
26	5,30	3,80	-1,50	4,05	- 0,25	7,40	6,10	+ 1,30
27	3,70	4,50	-0,80	2,90	+ 1,60	9,00	6,35	+ 2,65
28	7,35	7,40	+0,05	2,75	+ 4,65	13,85	8,65	+ 5,20

Nr.	E.A.	Ch.L.A.		Ch.A.		I.St.V.M. m.Dextrose	I.St.V.M. ohne Dextrose	
		K	dw	K	dw	K	dw	dw ₁
29	4,80	4,70	-0,10	2,50	+ 2,20	9,30	6,55	+ 2,75
30	4,65	10,05	-5,40	3,60	+ 6,45	14,40	9,35	+ 5,05
31	7,60	9,45	+1,85	2,85	+ 6,60	13,45	7,40	+ 6,05
32	6,30	10,45	+4,15	4,00	+ 6,45	17,65	11,85	+ 5,80
33	6,65	7,20	+0,55	3,40	+ 3,80	15,30	8,00	+ 7,30
34	10,40	9,25	-1,15	8,10	+ 1,15	21,60	10,25	+11,35
35	7,60	5,35	-2,25	5,85	+ 0,50	17,75	6,95	+10,80
36	7,70	9,10	+1,40	5,65	+ 3,45	15,80	10,25	+ 5,55
37	6,50	10,00	+3,50	3,80	+ 6,20	11,80	7,20	+ 4,60
38	5,30	4,60	-0,70	3,40	+ 1,20	13,25	8,30	+ 4,95
39	10,45	5,75	-4,70	7,10	+ 1,35	22,10	7,95	+14,15
40	4,10	6,15	+2,05	2,40	+ 3,75	10,00	6,65	+ 3,35
41	4,25	6,50	+2,25	2,55	+ 3,95	11,50	7,00	+ 4,50
42	4,00	7,15	+3,15	2,50	+ 4,65	8,95	5,55	+ 3,40
43	4,25	7,10	+2,85	2,65	+ 4,45	8,05	5,00	+ 3,05
44	4,15	6,50	+2,35	2,80	+ 3,70	9,20	4,30	+ 4,90
45	4,00	6,20	+2,20	2,80	+ 3,40	9,10	6,00	+ 3,10
46	4,40	6,10	+1,70	3,80	+ 2,30	9,10	5,25	+ 3,85
47	3,50	5,75	+2,25	4,55	+ 1,20	8,60	5,40	+ 3,20
48	4,70	6,75	+2,05	4,10	+ 2,65	9,10	6,15	+ 2,95
49	6,65	8,60	+1,95	3,75	+ 4,85	9,00	7,10	+ 1,90
Sa.	322,15	378,70	+45,70	238,40	+140,30	658,70	455,05	+203,65

n = 49

arithm.

Mittel:	6,57	7,73	+0,93	4,87	+ 2,86	13,44	9,29	+ 4,15
		t = 2,38 signifikant		t = 6,81 signifikant			t = 7,94 signifikant	

50	6,70	5,35	-1,35	ausgefal- len	-	9,80	6,15	- 3,65
----	------	------	-------	------------------	---	------	------	--------

a) Untersuchungsergebnisse

Die Untersuchungsergebnisse sind in der Tabelle III niedergelegt, bei allen Trinkmilchproben konnten die Keimzahlen mit den eingesetzten 5 Nährmedien bei der Verdünnungsstufe 10^{-3} festgestellt werden. In der Tabelle sind die Keimzahlen (K) wieder mit dem Faktor 10^4 dividiert angegeben.

Als Bezugsnährböden dienten:

der Bouillonagar (BA) für den Chinablauf-Laktose-Agar (Ch.L.A.)
der Chinablauf-Agar (Ch.A.) für den Chinablauf-Laktose-Agar (Ch.L.A.)

das internationale Standard-Vergleichsmedium ohne Dextrosezusatz (I.St.V.o.Z.) für das internationale Standard-Vergleichsmedium mit Dextrosezusatz (I.St.V.m.Z.)

In diesem Sinne beziehen sich die für den Chinablauf-Laktose-Agar ermittelten Differenzwerte dv jeweils auf die korrelierenden Ergebnisse mit dem Bouillonagar, die für den Chinablauf-Laktose-Agar ermittelten Differenzwerte dv_1 auf die Ergebnisse mit dem Chinablauf-Agar ohne Laktosezusatz und die für das internationale Standard-Vergleichsmedium mit Dextrose ermittelten Differenzwerte dv_2 auf die korrelierenden Ergebnisse mit dem internationalen Standard-Vergleichsmedium ohne Dextrosezusatz.

b) Besprechung

Im vorliegenden Untersuchungsabschnitt wurden die Keimzahlen von insgesamt 50 pasteurisierten Trinkmilchproben ermittelt. In der Tabelle III sind die Keimzahlen von 49 Proben bei einem Verdünnungsfaktor 10^3 zusammengefaßt und ausgewertet. Eine Probe konnte in die Auswertung nicht mit einbezogen werden, da der Chinablauf-Agar ohne Laktose hier ausgefallen ist. Sie ist am Ende der Tabelle aufgeführt.

Beim Vergleich der mit Bouillonagar und Chinablauf-Laktose-Agar ermittelten Keimzahlen ist zu erkennen, daß der Chinablauf-Laktose-Agar in 33 von 49 Proben gegenüber dem Bouillonagar ein erhöhtes Kolonienwachstum zeigte. Die arithmetischen Mittelwerte betragen für Bouillonagar 6,57, für Chinablauf-Laktose-Agar 7,73, der dazugehörige Differenzwert $dv = +0,93$.

Der paarweise Vergleich ergab einen t-Wert von 2,38, die mittlere Differenz ist signifikant.

In diesem Versuchsabschnitt zeigt sich erneut, daß der Chinablau-Laktose-Agar gegenüber dem Bouillonagar wesentlich höhere Keimzahlen hervorbrachte. Die im Vergleich zu den vorausgegangenen Versuchsabschnitten relativ niedrigen Keimzahlen sprechen für eine keimärmere Milch mit einem geringen Anteil absolut zuckerbedürftiger Keime.

Beim Vergleich des Chinablau-Laktose-Agars mit dem Chinablau-Agar ohne Laktose erkennt man, daß der erstere in 41 von 49 Proben erhöhtes Kolonienwachstum aufwies. Die Berechnung der arithmetischen Mittelwerte ergab für Chinablau-Laktose-Agar einen Wert von 7,73, für Chinablau-Agar ohne Laktose 4,87, die Differenz $dv_1 = +2,86$. Der paarweise Vergleich ergab einen t-Wert von 6,81. Die mittlere Differenz ist somit hoch signifikant.

Die erheblich erhöhten Keimzahlen in Chinablau-Laktose-Agar gegenüber dem Chinablau-Agar ohne Laktose unterstreichen die Wichtigkeit des Zuckers (Laktose) als Bestandteil des Nährbodens zur Ermittlung der Keimzahlen in pasteurisierter Trinkmilch. Die mit dem Chinablau-Agar ohne Laktose erzielten Keimzahlen blieben im Durchschnitt erheblich unter den Keimzahlen mit Bouillonagar. Bei der Zusammensetzung der beiden Nährböden weist dies auf eine schädigende Wirksamkeit des Chinablaus hin, die dann im Chinablau-Laktose-Agar durch den Laktosezusatz ausgeglichen wird.

Das internationale Standard-Vergleichsmedium mit Dextrosezusatz zeigte in 45 von 49 Proben gegenüber dem internationalen Standard-Vergleichsmedium ohne Dextrose ein erhöhtes Kolonienwachstum. Der arithmetische Mittelwert lag für das internationale Standard-Vergleichsmedium mit Dextrosezusatz bei 13,44, für das internationale Standard-Vergleichsmedium ohne Dextrosezusatz bei 9,29. Der paarweise Vergleich ergab einen mittleren Differenzwert dv_2 von 4,15 und einen t-Wert von 7,94. Die mittlere Differenz ist somit hoch signifikant.

Die wesentlich erhöhten Keimzahlen im internationalen Standard-Vergleichsmedium mit Dextrose gegenüber dem internationalen Standard-Vergleichsmedium ohne Dextrose bestätigen, daß der Traubenzuckergehalt des Nährbodens für die Ergebnisse der Keimzählung von entscheidender Bedeutung ist. Andererseits weist eine Gegenüberstellung der mittels Bouillonagar und dem Vergleichsmedium ohne Dextrose erzielten Keimzahlen darauf hin, daß auch der Art des zuckerfreien Grundsubstrates wesentliche Bedeutung zukommt.

D. Diskussion der Ergebnisse und Schlußfolgerungen

Als günstigster Nährboden für die Keimzahlbestimmung in pasteurisierter Milch ist derjenige anzusehen, der ein optimales Wachstum für möglichst sämtliche in der Trinkmilch vorkommenden Keime gewährleistet. Nach KELLERMANN (25, 28) ist es nicht richtig, zwischen schädlichen und nützlichen Keimarten in pasteurisierter Milch zu unterscheiden, sondern im Vordergrund sollte die Aussagekraft über die hygienischen Verhältnisse stehen (3).

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden verschiedene Nährböden zur Keimzahlbestimmung bei Milch vergleichend auf ihre Brauchbarkeit zur kulturellen Keimzählung bei pasteurisierter Milch geprüft. Die Untersuchungen wurden unter Verwendung des für die Keimzahlbestimmung in Markenmilch vorgeschriebenen Bouillonagars, des von der Methodenkommission angegebenen Chinablau-Laktose-Agars und des im Internationalen Standard FIL / IDF / IMV3 - 1958 vom Internationalen Milchwirtschaftsverband empfohlenen Standard-Vergleichsmediums vorgenommen. Gleichzeitig wurde die Bebrütungs-dauer als Faktor der kulturellen Keimzählung in die Untersuchungen einbezogen und geprüft, ob eine 48stündige Bebrütung zur Keimzahlbestimmung ausreicht bzw. ob bei Erhöhung der Bebrütungszeit auf 72 Stunden eine wesentliche Vermehrung des Kolonienwachstums eintritt. Außerdem wurde noch die Bedeutung des Magermilchzusatzes im internationalen Standard-Vergleichsmedium sowie die des Zuckerzusatzes im Chinablau-Laktose-Agar und im internationalen Standard-Vergleichsmedium geprüft.

Die Untersuchungen wurden in drei Untersuchungsabschnitten vorgenommen. Im ersten Abschnitt mit 95 Milchproben wurden die Nährböden und die Bebrütungs-dauer von 48 und 72 Stunden vergleichend geprüft. Im 2. Abschnitt mit 45 Milchproben wurden die Vergleichsuntersuchungen des vorausgegangenen Abschnittes jedoch nur noch bei einmaliger Ablesung der Versuchsnährböden nach 72-stündiger Bebrütung fortgesetzt und gleichzeitig die Bedeutung des Magermilchzusatzes im internationalen Standard-Vergleichsmedium studiert. Im dritten Abschnitt mit 50 Milchproben wurde schließlich die Bedeutung des Zuckerzusatzes zum Chinablau-Laktose-Agar und zum internationalen Standard-Vergleichsmedium un-

tersucht. Um eine Beeinflussung der Untersuchungsergebnisse durch die in der Magermilch enthaltene Laktose zu vermeiden, wurde zu dieser Wirkungsanalyse für das internationale Standard-Vergleichsmedium das Substrat ohne Magermilchzusatz eingesetzt. Des weiteren wurden in diesem Abschnitt die Vergleichsuntersuchungen zwischen Bouillonagar und Chinablau-Laktose-Agar weitergeführt.

Die untersuchte pasteurisierte Milch stammte aus Handelsbetrieben im Absatzgebiet einer Molkerei und war einer überhöhten Kurzzeiterhitzung auf 75 - 76°C unterzogen. Es wurde ausschließlich in Einmalpackungen abgefüllte Milch untersucht.

Die Untersuchungsergebnisse haben beim Vergleich der Nährböden untereinander ergeben, daß der Bouillonagar die niedrigsten Keimzahlen hervorbrachte. Der Chinablau-Laktose-Agar erzielte günstigere Ergebnisse und ermöglicht auch die Differenzierung von Säure- und Nichtsäurebildner. Der Nährboden zeigte jedoch in den verschiedenen Untersuchungsabschnitten unterschiedliche Resultate, die vor allem auf Unterschiede in der Keimflora aber auch auf den beigegebenen Farbstoff, der nicht immer völlig indifferent zu sein scheint, zurückzuführen sein dürften. Das internationale Standard-Vergleichsmedium erbrachte die höchsten Keimzahlen und war allen anderen Nährmedien weit überlegen. Den gleichen Nährboden hat 1958 CROSSLEY (10) mit einem Standardisierungsvorschlag für die Keimzahlbestimmung vorgeschlagen. Die in der Tabelle Ia besonders erhöhten Keimzahlen durch den Chinablau-Laktose-Agar und das internationale Standard-Vergleichsmedium gegenüber dem Bouillonagar sprechen für einen hohen Anteil absolut zuckerbedürftiger Keime in der geprüften Trinkmilch trotz überhöhter Kurzzeiterhitzung.

Die Verlängerung der Bebrütung von 48 auf 72 Stunden brachte eine wesentliche Erhöhung der Keimzahlen. Die Ablesung nach 48 Stunden gab lediglich orientierende Hinweise über den Keimgehalt der Milch und erscheint nur zu Übersichtszwecken brauchbar. Um

auch die langsam wachsenden Keime ermitteln zu können ist es notwendig, stets länger als 48 Stunden bei 30°C die Platten zu bebrüten, wie dies im Ausland auch in der Regel getan wird. Die Untersuchungen von TEWES und v. GAVÊL (48) bestätigen diese Ergebnisse. Auch KELLERMANN (28) tritt für eine verlängerte Bebrütung der Keimzählplatten ein. Der Internationale Milchwirtschaftsverband empfiehlt gleichfalls eine 3 Tage lange Bebrütung.

Beim Vergleich des internationalen Standard-Vergleichsmediums mit Magermilchzusatz mit dem gleichen Nährboden ohne Magermilchzusatz ergaben sich keine signifikanten Differenzen. Ein Weglassen der Magermilch aus diesem Nährboden ist demnach ohne wesentlichen Einfluß auf das Keimwachstum bzw. die ermittelten Keimzahlen.

Die Untersuchungsergebnisse über den Zuckerzusatz bei den verwendeten zuckerhaltigen Keimzähl Nährböden (Chinablau-Laktose-Agar und internationalen Standard-Vergleichsmedium) unterstreichen die grosse Bedeutung des Zuckers für das Wachstum der Keime. Es wurden beim Chinablau-Laktose-Agar und dem internationalen Standard-Vergleichsmedium (mit Dextrose) bedeutend höhere Keimzahlen erzielt, als mit den gleichen Nährböden ohne Zuckerzusatz. Die Differenzen erwiesen sich als hochsignifikant.

Die mit dem Chinablau-Agar ohne Laktose erzielten Keimzahlen blieben im Durchschnitt erheblich unter den Keimzahlen mit Bouillonagar. Der Umstand spricht dafür, daß der Chinablau-Farbstoff für das Keimwachstum nicht indifferent ist. Im Chinablau-Laktose-Agar wird jedoch durch den Milchzuckerzusatz diese nachteilige Wirksamkeit ausgeglichen. Andererseits erbrachte der Bouillonagar bedeutend niedrigere Keimzahlen als das internationale Standard-Vergleichsmedium ohne Traubenzucker. Daraus ergibt sich, daß auch die Art des zuckerfreien Grundsubstrates für die kulturelle Keimzählung bei pasteurisierter Milch wesentlich ist.

KELLERMANN (28) stellt fest, daß der Bouillonagar für die Gesamtkeimzahlbestimmung in Trinkmilch sich nicht eignet, weil

in ihm der Zuckerzusatz fehlt, der für das Gedeihen der spezifischen Milchflora notwendig ist. Die Annahme, daß es sich um einen Selektivnährboden für eiweißabbauende Keime handelt, auf dem die hitzegeschwächten Milchsäurebakterien nicht wachsen, hat sich nicht bestätigt. Nach BECK (3), FEILS (15), KANDLER (22) und KELLERMANN (28) sollte man deshalb zur Gesamtkeimzahlbestimmung einen zuckerhaltigen Nährboden verwenden, der das Wachstum der meist in der Milch vorhandenen Keime begünstigt. KELLERMANN (28), FEILS (15) und auch SEELEMANN (44) weisen darauf hin, den Chinablau-Laktose-Agar zur Keimzahlbestimmung in pasteurisierter Milch zu benutzen, wie es schon HENNEBERG vor mehr als 30 Jahren getan hat.

Aus den Untersuchungsergebnissen ist zu folgern, daß die derzeit in der Bundesrepublik Deutschland vorgeschriebenen Methoden für die kulturelle Keimzahlbestimmung in pasteurisierter Milch nicht den gegebenen Anforderungen entsprechen. Dieser Umstand tritt mit besonderer Deutlichkeit bei der Markenmilch hervor. Die Markenmilch stellt eine gehobene molkereimäßig bearbeitete Milchsorte dar, für deren Untersuchung auf Gesamtkeimgehalt in § 10 Abs. 2, Ziff. 1, der Markenmilchverordnung vom 31. Juli 1959 der Bouillonagar vorgeschrieben ist, wobei die Bebrütungszeit laut Anlage zur Verordnung 48 Stunden betragen soll. Andererseits brachte der Bouillonagar von den geprüften Nährmedien die geringsten Keimzahlen hervor. Daraus ergibt sich, daß die erzielten Keimzahlen bei der Markenmilch ein völlig falsches Bild hinsichtlich des tatsächlichen Keimstatus vermitteln. Für die Keimzahlbestimmung in pasteurisierter Milch sollte das internationale Standard-Vergleichsmedium mit einer auf 72 Stunden verlängerten Bebrütungsdauer eingeführt werden. Vor einer solchen Umstellung auf einen hochwertigen Keimzähl Nährboden müßten jedoch entsprechende neue Grenzwerte für die verschiedenen Erhitzungsverfahren erarbeitet werden.

M. Zusammenfassung

In 3 Versuchsabschnitten wurden bei 190 Trinkmilchproben der Bouillonagar laut Markenmilchverordnung, der Chinablau-Laktose-Agar und das internationale Standard-Vergleichsmedium auf ihre Brauchbarkeit zur Keimzählung bei pasteurisierter Milch überprüft. Außerdem wurde die Bedeutung des Milchzusatzes im internationalen Standard-Vergleichsmedium und die Bedeutung des Zuckerzusatzes im Chinablau-Laktose-Agar und im internationalen Standard-Vergleichsmedium untersucht. Um die Bebrütungsdauer als Faktor der kulturellen Keimzählung in die Untersuchungen einzubeziehen, erfolgte die Ablesung im ersten Versuchsabschnitt nach 48- und 72stündiger Bebrütung. Im zweiten und dritten Versuchsabschnitt wurde nur nach 72stündiger Bebrütung bei 30°C abgelesen.

a) Versuchsergebnisse

- 1.) Die Verlängerung der Bebrütung auf 72 Stunden brachte eine wesentliche Erhöhung der Keimzahlen. Die 48stündige Bebrütung reicht nur aus, um einen Überblick über die Keimzahlen zu bekommen. Um auch die langsam wachsenden Keime zu erfassen, muß über 48 Stunden hinaus bebrütet werden.
- 2.) Der Nährbodenvergleich zeigt, daß der Bouillonagar die geringsten Keimzahlen hervorbrachte. Günstigere Ergebnisse konnten mit dem Chinablau-Laktose-Agar erzielt werden, der auch eine Differenzierung der Säure- und Nichtsäurebildner ermöglicht. Der Nährboden zeigte jedoch schwankende Resultate, die vor allem auf Unterschiede in der Keimflora zurückzuführen sein dürften. Das internationale Standard-Vergleichsmedium ergab die höchsten Keimzahlen.
- 3.) Das Fehlen der Magermilch im internationalen Standard-Vergleichsmedium führte zu keinen signifikanten Differenzen.
- 4.) Das Vorhandensein von Zucker in den Keimzählnährböden ist für das Wachstum der Keime von entscheidender Bedeutung.

- 5.) Der Chinablau-Farbstoff ist für das Keimwachstum nicht indifferent, diese nachteilige Wirksamkeit wird jedoch im Chinablau-Laktose-Agar durch den Milchzuckerzusatz ausgeglichen.
- 6.) Ein Vergleich der mit Bouillonagar und dem internationalen Standard-Vergleichsmedium ohne Magermilch und ohne Dextrose erzielten Keimzahlen unterstreicht die Bedeutung des Grundnährbodens.

b) Schlußfolgerung

Die derzeit vorgeschriebenen Methoden für die kulturelle Keimzählung in pasteurisierter Milch entsprechen nicht den Anforderungen. Als Kulturmedium sollte das internationale Standard-Vergleichsmedium eingeführt und die Bebrütungsdauer auf 72 Stunden verlängert werden. Weitere Untersuchungen erscheinen jedoch erforderlich.

F. Literaturverzeichnis

1. ABO - ELNAGA, J. G. und O. KANDLER:
Der Einfluß der Therminisierung und Pasteurisierung
auf die Laktobacillenflora der Milch
Milchwissenschaft 20, 199 (1965)
2. BARTELS, H.:
s. Ziffer 34
3. BECK, G.:
Milchuntersuchung in den Veterinäruntersuchungsämtern
Arch. Lebensmittelhyg. 13, 121 (1962)
4. BOWERS und G. J. HUCKER:
zit. nach W. Schönherr, Tierärztliche Milchuntersuchung
5. BOYSEN und G. GODBERSEN:
Die Feststellung und Bewertung des Keimgehaltes bei der
Trinkmilchüberwachung - Empfehlung eines neuen Nährbodens.
Milchwissenschaft 10, 310 (1955)
6. BRANDEL, E. und E., SOBECK - SKAL:
Zur Methode der Keimzahlbestimmung in der Milch mit
Chinablau-Milchzucker-Bouillon-Agar.
Arch. Lebensmittelhyg. 14, 274 (1963)
7. BRANDEL, E. und E., SOBECK - SKAL:
Über die Keimzahlbestimmung in der Milch mit Chinablau-
Milchzucker-Bouillonagar.
Milchwissenschaftliche Berichte Wien 13, 1 (1963)
8. BUCHBINDER, L., BARIS, Y., ALFF, E., REYNOLDS, E., DILLOH, E.,
PESSIN, V., PINKUS, L., STRAUSS, ARON:
Neue Nährböden für die Standardmethode zur Keimzahlbe-
stimmung in Milchprodukten. (New standard plate count
media for dairy products.)
Public. Health Reports 66, Nr. 11 327 (1953)
Milchwissenschaft 8, 398 (1953)

9. CIBLIS, E.:
Einfluß verschiedener Faktoren auf die Bakteriologische Beschaffenheit und Haltbarkeit von pasteurisierter Milch. Milchwissenschaft 20, 123 (1965)
10. CROESSLEY, E.L.:
Die Keimzahl von Milch und Trinkmilch. Internationaler Milchwirtschaftsverband Bericht Nr. 61 (1958)
Milchwissenschaft 10, 474 (1958)
11. DAWIS, J.G.:
zit. nach W. Schönherr, Tierärztliche Milchuntersuchung.
12. DEMETER, K.J. und LÖWENECK:
zit. nach W. Schönherr, Tierärztliche Milchuntersuchung.
13. Deutsche Kommission zur Vereinheitlichung der Untersuchungsmethoden für Milch, Milchprodukte und Molkereihilfsstoffe (METHODENKOMMISSION):
Die mikrobiologischen Methoden für die Untersuchung von Milch und Milcherzeugnissen.
Milchwissenschaft 15, 120 (1960)
14. DÖRGE, F.:
Die Bewertung des Keimgehaltes in Trinkmilch auf Grund der Trinkmilchverordnung für Schleswig-Holstein.
Molkerei- und Käserei-Ztg. 6, 99 (1955)
15. FEILS, G.:
Erfahrungen bei der Keimzahlbestimmung in pasteurisierter Trinkmilch.
Arch. Lebensmittelhyg. 17, 8 (1966)
16. FRANK, H. und F. BUCHMAYER:
Zur Frage des Einflusses von Agar auf die Keimzählung.
Milchwissenschaft 16, 302 (1961)
17. v. GAVEL, L.:
Die Pasteurisation als Selektion hitzeresistenter Bakterien.
Milchwissenschaft 15, 227 (1960)

18. HENNEBERG, W.:
Nachweis von Säure- und Alkalibildner
Molkerei-Ztg. Hildesheim 44, 363 (1930)
19. INTERNATIONALER MILCHWIRTSCHAFTSVERBAND:
Bestimmung des Keimgehaltes von flüssiger und getrock-
neter Milch.
Internationaler Standard FIL / IDF / IMV3 - 1958
Milchwissenschaft 16, 650 (1961)
20. JANOSCHEK, A.:
Zur Entkeimung von Milch.
Deutsche Molkerei-Ztg. 80, 681 (1959)
21. JEPSEN, A.:
zit. nach W. Schönherr, Tierärztliche Milchuntersuchung.
22. KANDLER, O.:
Über die Hitzeresistenz und der Nachweis der Mikroflora
kurzzeiterhitzter Milch.
Milchwissenschaft 15, 165 (1960)
23. KANDLER, O.:
Der Einfluß des Zuckergehaltes auf die Keimzählung.
Wissenschaftlicher Jahresbericht Freising, Weihenstephan
5, 62 (1962)
24. KANDLER, O.:
Vergleichende Untersuchungen über die Haltbarkeit kurz-
zeit- und hocherhitzter Milch.
Molkerei-Ztg. Hildesheim 15, 444 (1961)
25. KELLERMANN, R.:
Probleme der Keimzahlbestimmung im Zusammenhang mit der
Pasteurisierung der Trinkmilch.
Milchwissenschaft 19, 236 (1964)
26. KELLERMANN, R.:
Kritische Betrachtung über die Keimzahlbestimmung und
über den Nachweis coliformer Bakterien in Trinkmilch.
Molkerei-Ztg. Hildesheim 17, 1385 (1963)

27. KELLERMANN, R.:
Zusammensetzung und Temperaturrestistenz der Mikroflora
kurzzeiterhitzter Milch.
Deutsche Molkerei-Ztg. 60, 1794 (1959)
28. KELLERMANN, R.:
Über den Einfluß des Nährbodens auf die Keimzahlbestimmung in pasteurisierter Milch.
Milchwissenschaft 19, 124 (1964)
29. KELLERMANN, R.:
Für Änderung bzw. Ergänzung der bakteriologischen Einheitsmethoden der Keimzahlbestimmung.
Molkerei-Ztg. Welt der Milch 12, 1323 (1960)
30. KLEESATH, W.:
Für Keimzahlbestimmung in Trinkmilch.
Molkerei- und Käserei-Ztg. 10, 1128 (1959)
31. KRAUS, H.:
Untersuchungen zur Qualitätsverbesserung unter Berücksichtigung der Proteolyten.
Habilitationsschrift Hannover 1958
32. KUNDRAT, W.:
Über die Keimauslese in der Milch bei verschiedenen Erhitzungsverfahren.
Milchwissenschaft 10, 79 (1959)
33. KUNDRAT, W.:
Zuckerhaltige und zuckerfreie Nährböden, - ihr Einfluß auf die Keimzahlbestimmung bei Trinkmilch.
Deutsche Molkerei-Ztg. 60, 2023 (1959)
34. LERCHE, M.:
Lehrbuch der tierärztlichen Milchüberwachung.
Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg 1966.
35. OLDENBURG, F.:
Technische und bakteriologische Fragen der Trinkmilchpasteurisierung vom Standpunkt eines Molkereileiters.
Milchwissenschaft 15, 158 (1960)

36. RODENKIRCHEN, J.:

Der Kieselsäurenährboden bei der Keimzahlbestimmung in der Milch, zugleich ein Beitrag zur Frage der zweckmäßigsten Bebrütung der Platten.

Milchwirtschaftliche Forschung 20, 175 (1940)

37. ROEDER, G.:

Grundzüge der Milchwissenschaft und des Molkereiwesens.
Verlag Paul Parey, Hamburg und Berlin 1954.

38. SCHÖNBERG, Fr.:

Zusammensetzung und Temperaturresistenz der Mikroflora kurzzeiterhitzter Milch.

Deutsche Molkerei-Ztg. 60, 1794 (1959)

39. SCHÖNBERG, Fr.:

Pasteurisierung der Trinkmilch in der Sicht der Bakteriologen unter Berücksichtigung der Milchhaltbarkeit.

Milchwissenschaft 15, 162 (1960)

40. SCHÖNHERR, W.:

Tierärztliche Milchuntersuchung, Hirzel-Verlag, Leipzig 1965.

41. SCHWARZ, G., E. CIBLIS und A. FRICKER:

Der Einfluß verschiedener Peptonsorten auf die Ergebnisse der Keimzahlbestimmung in Milch.

Milchwissenschaft 9, 40 (1954)

42. SCIENTIFIC COMMITTEE for STANDARDIZATION, THE NETHERLANDS:

Die Kolonienkeimzählung in der Milch. Niederländischer Standard NEN 1507.

Neth. Milk. Dairy J 16, (4) 308 (1962)

Milchwissenschaft 18, 137 (1963)

43. SEELEMAN, M.:

Zur Frage der Verkürzung der Heißhaltezeit bei der Kurzzeiterhitzung.

Molkerei- und Käserei-Ztg. Hildesheim 9, 1489 (1958)

44. SEELEMANN, M.:
Künftige Probleme der Milchhyg. im Zeitalter der E.W.G.
Heinrichs Verlag KG / 32 Hildesheim 1
45. SINELL, H-J., G. REUTER und F. UNTERMANN:
Zur Standardisierung der aneroben Gesamtkeimzahlbestimmung in Fleisch und Fleischerzeugnissen.
Arch. Lebensmittelhyg. 16, 217 (1965)
46. STOCKER, W.:
Hitzebeständige Milchsäurestreptokokken.
Deutsche Molkerei-Ztg. 79, 1493 (1958)
47. TERROINE, E.F.:
Technik der Feststellung der Mikroorganismen der Milch.
Z. Lebensmittel-Untersuch. u. Forsch. 19, 119 (1961)
48. TEWES, G. und L. v. GAVÈL:
Zur Keimzahlbestimmung in Trinkmilch.
Milchwissenschaft 8, 255 (1953)
49. TEWES, G. und L. v. GAVÈL:
Abtötungseffekte und Keimauslese bei den verschiedenen
Milcherhitzungsverfahren. Aktivierung von Bakteriensporen.
Deutsche Molkerei-Ztg. Kempten 74, 882 (1953)
50. WEBER, E.:
Grundriß der biologischen Statistik. 4. Auflage.
VEB Gustav Fischer Verlag, Jena 1961.
51. WILSON, G.S.:
zit. nach Tewes und v. Gavèl
Milchwissenschaft 8, 255 (1953)
52. ---
Trinkmilchverbrauch 1963.
Arch. Lebensmittelhyg. 15, 141 (1964)

Abschließend möchte ich meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. H. BARTELS, für die Überlassung des Themas sowie die Unterstützung der Arbeit meinen besonderen Dank aussprechen.

Weiterhin gilt mein aufrichtiger Dank den Angehörigen des Institutes für Tierärztliche Nahrungsmittelkunde der Justus Liebig-Universität Gießen, insbesondere Herrn Privatdozenten Dr. K. LANG, dem ich für die stets verständnisvolle Beratung während meiner Arbeit ganz besonders verpflichtet bin.

L e b e n s l a u f

Am 20. Oktober 1932 wurde ich als Sohn des Kartonagenfabrikanten Herbert Schauer und seiner Ehefrau Frida geborene Einkel in Geyer / Erzgebirge geboren.

Von 1939 bis 1947 besuchte ich die Volksschule und war anschließend 3 Jahre in einer landwirtschaftlichen Lehre. Danach besuchte ich 1 Jahr die Fachschule für Landwirtschaft in Wurzen und daran anschließend von 1951 bis 1954 die Arbeiter- und Bauernfakultät der Humboldt-Universität zu Berlin, wo ich 1954 die Reifeprüfung ablegte.

Das Studium der Veterinärmedizin begann ich 1954 in Leipzig und arbeitete nach dem bestandenen 1. Abschnitt der Tierärztlichen Vorprüfung an der Forschungsstelle für Landarbeit in Gundorf. Im Sommersemester 1958 setzte ich mein Studium an der Justus Liebig-Universität in Gießen fort und bestand im Februar 1960 den 2. Abschnitt der Tierärztlichen Vorprüfung und im Juni 1963 die Tierärztliche Prüfung.

Vom 15. 7. 1963 bis 15. 1. 1964 leistete ich meine Veterinärpraktikantenzeit bei Herrn Dr. Ferdinand Jahn, Hofbieber, ab und war dort nach Erlangung der Approbation weiterhin als Assistent beschäftigt. Seit dem 15. 11. 1964 bin ich tageweise als Aushilfsfleischbeschautierarzt in Frankfurt/Main tätig. Vom 15. 11. 1964 bis zum 20. 7. 1966 arbeitete ich auch als Doktorand im Institut für Tierärztliche Nahrungsmittelkunde der Justus Liebig-Universität, Gießen, und fertigte die vorgelegte Dissertation an.

FOTO-DRUCK

H. Gahmlg · Graph. Anstalt · 63 Gießen · Klinikstraße 21 · Telefon 78546

FOTO-DRUCK

H. Gahmig · Graph. Anstalt · 63 Gießen · Klinikstraße 21 · Telefon 78546